

PRISCILA KREBSBACH

**HISTOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA DA ESTRUTURA
ESTOMACAL DO PEIXE ANTÁRTICO *NOTOTHENIA ROSSII* (RICHARDSON, 1844) SOB
CONDIÇÕES DE ESTRESSE TÉRMICO**

CURITIBA

2011

PRISCILA KREBSBACH

**HISTOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA DA ESTRUTURA
ESTOMACAL DO PEIXE ANTÁRTICO *NOTOTHENIA ROSSII* (RICHARDSON, 1844) SOB
CONDIÇÕES DE ESTRESSE TÉRMICO**

Monografia apresentada à banca
examinadora do Departamento de
Biologia Celular da Universidade Federal
do Paraná, para a obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucélia Donatti

CURITIBA

2011

Dedico

À **Deus**, pelo dom da vida.

Aos meus pais, **Jacqueline e Aloísio**, pessoas incríveis que me servem de exemplo. Agradeço o incentivo e o carinho em todos os momentos da minha vida.

À minha irmã, **Letícia**, que muito amo.

Ao meu namorado, **Eduardo**, pela compreensão durante o curso, em especial nos momentos de ausência.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Paraná pela oportunidade de ensino de qualidade.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Lucélia Donatti pelas oportunidades, incentivo, dedicação, compreensão e pela orientação durante a graduação, e, principalmente nesta monografia.

Ao Seu Nino pelos conselhos para a confecção das lâminas histológicas.

À Prof^a. Dr^a. Thelma Veiga Ludwig, do Laboratório de Ficologia, por ceder o fotomicroscópio para a captura das imagens.

À Me. Mari Forgati, pela super ajuda nas análises morfológicas.

Ao Me. Axel Cofré, pela ajuda imprescindível, nas análises de imagens e estatísticas.

Aos meus colegas e amigos de laboratório que tornaram o ambiente de trabalho alegre e divertido. À Maria Rosa e a Nádia, pelas ótimas viagens a congressos sempre repletas de risadas e bom astral. À Cintia, Cléo, Marina e Danilo, por tornarem o trabalho no gelo ainda mais gostoso e proveitoso. À Banana (ops, Luciana!) por mostrar-se uma amiga tão querida, sempre com alegria contagiante. E a todos que fizeram parte dessa jornada Gabi, Camile, Cláudio e tantos outros mais!

A todos os meus familiares pela curiosidade e incentivo nessa minha caminhada.

Aos meus amigos de graduação pela força e companhia durante o curso. Cada um de vocês tem um lugarzinho no meu coração e memória! Ari, Be, Shey, Giselinha, Sussu, Babs, Lulu, Greg!!!

A todos os presentes e responsáveis pela realização da 1ª Fase da XXIX Operantar pela união e companheirismo durante o período.

Agradeço a todas as pessoas que fazem parte da minha vida acadêmica, profissional e pessoal, que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste objetivo com plenitude.

Com carinho, obrigada a todos.

*"Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é
senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria
menor se lhe faltasse uma gota. "*

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

Este trabalho teve o objetivo de avaliar histológica e histoquimicamente a estrutura estomacal do peixe antártico, *Notothenia rossii*, submetido ao estresse térmico. Os peixes foram coletados na Baía do Almirantado, Ilha Rei George, Arquipélago das Shetlands do Sul, na Península Antártica e aclimatados em tanques contendo água marinha a uma temperatura de 0°C e salinidade de 35psu localizados na Estação Antártica Comandante Ferraz. Após aclimação os peixes foram expostos a salinidade de 35psu e temperaturas de 0°C (animais controle) e 4°C e 8°C (animais experimentais) durante 24 horas, 96 horas, 15 dias e 30 dias. O “n” amostral para cada situação experimental e controle foi de 5 animais. Histologicamente o tecido estomacal foi dividido em região cárdica, fúndica e pilórica e as respectivas amostras foram fixadas em Bouin durante 24 horas visando o processamento em microscopia de luz. Após fixação, as amostras foram desidratadas em série alcoólica crescente, diafanizadas em xileno, impregnadas e incluídas em Paraplast Plus®Sigma. Para determinação da morfologia padrão da estrutura estomacal a coloração utilizada foi a Hematoxilina-Eosina (H.E.) e para a detecção da natureza das mucossustâncias as técnicas histoquímicas de PAS - Ácido Periódico de Schiff (detecção de carboidratos neutros), Alcian Blue pH 2,5 (detecção de carboidratos ácidos carboxilados e sulfatados) e Alcian Blue pH 1,0 (detecção de carboidratos sulfatados) foram utilizadas. Análises morfométricas foram realizadas, utilizando o software Image Pro Plus 6.0. Para cada situação mensurou-se a camada mucosa, submucosa e muscular, além das dimensões das dobras gástricas; bem como, quantificou-se a intensidade das reações histoquímicas. *Notothenia rossii* mantidas a 0°C apresentaram a espessura da camada mucosa nas regiões cárdica, fúndica e pilórica estatisticamente equivalente. A camada muscular é significativamente maior, na região pilórica em comparação as regiões cárdica e fúndica, nos animais mantidos a 0°C durante 24 horas e 15 dias. Na região pilórica observou-se um aumento significativo na espessura da camada mucosa dos animais mantidos durante 96 horas a 8°C quando comparados com o grupo experimental submetido a 4°C. A presença de glicoproteínas neutras mostra-se evidente pela reação de PAS, enquanto a presença de glicoproteínas ácidas (carboxiladas e sulfatadas) coradas com a técnica de AB pH 2,5 é fraca, e as glicoproteínas ácidas (sulfatadas) não foram encontradas utilizando-se a técnica de AB pH 1,0.

Palavras-chave: Antartica, notothenídeos, histologia, histoquímica, estômago, temperatura.

ABSTRACT

The purpose of this study was to describe the histological and histochemical of the stomach of a antarctic fish, *Nototothenia rossii*, subject to thermal stress. Fish were collected in Admiralty Bay, King George Island, South Shetlands Islands in the Antarctic Peninsula and acclimated in tanks containing seawater at a temperature of 0°C and salinity of 35 psu located at Estação Antártica Comandante Ferraz. After acclimation, fish were exposed to salinity 35 psu and temperatures of 0°C (control animals) and 4°C e 8°C (experimental animals) for 24 hours, 96 hours, 15 days and 30 days. The “n” sample for each experimental and control situation was 5 animals. The stomach is histologically divided into the cardiac, fundic and pyloric portions and their samples were fixed by immersion in Bouin for 24 hours order processing under light microscopy. After fixation, the samples were dehydrated in a graded series of alcohol, cleared in xylene, impregnated and embedded in Paraplast Plus®Sigma. To determine the pattern of morphological structure of the stomach was stained with Haematoxylin and Eosin (H.E.). Periodic acid- Schiff (PAS) was used for demonstration of neutral carbohydrates. Alcian Blue (AB) pH 2,5 was used for demonstration of acid carbohydrates (carboxyl and sulphate groups). And Alcian Blue pH 1,0 was used for demonstration of acid carbohydrates (sulphate group). Morphometric analyses was performed using the Image Pro Plus software program. For each situation is measured a thickness layers of mucosa, submucosa and muscularis thickness, beyond the dimension of the gastric folds. As well as quantified the intensity of histochemical reactions. *Nototothenia rossii* kept at 0°C showed the thickness of the mucosa layer in the regions cardiac, fundic and pyloric statistically equivalent. The muscle layer is significantly higher in the pyloric region in comparison to the cardiac and fundic regions, in animals kept at 0°C for 24 hours and 15 days. In the pyloric region was observed a significant increase in the thickness of the mucosa of animals kept for 96 hours at 8°C when compared with the experimental group subject to 4°C. The presence of neutral carbohydrates was evident by the PAS reaction, while the presence of acid carbohydrates (carboxyl and sulphate groups) stained with AB pH 2,5 is weak, and acid carbohydrates (sulphate group) wasn't found using the technique of AB pH 1,0.

Palavras-chave: Antartica, notothenioids, histology, histochemical, stomach, temperature.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Mapas dos supercontinentes A. Pangéia; B. Laurásia e Gondwana; C. Posição atual dos continentes	18
Figura 2: Mapa do Continente Antártico	19
Figura 3: Mapas do Continente Antártico	23
Figura 4: Mapa do local de estudo – Ilha Rei George	24
Figura 5: Local de estudo – Estação Antártica Comandante Ferraz	24
Figura 6: Exemplar de <i>Notothenia rossii</i>	34
Figura 7: Mapa da Baía do Almirantado com os pontos de coleta	35
Figura 8: Bote pneumático	35
Figura 9: Lancha oceanográfica SKUA	36
Figura 10: Módulo de Aquários	37
Figura 11: Esquema dos experimentos	38
Figura 12: Fotografia de <i>Notothenia rossii</i>	39
Figura 13: Fotografia e desenho esquemático do estômago de <i>Notothenia rossii</i> ...	39
Figura 14: Fluxograma com os procedimentos para a microscopia óptica.....	41
Figura 15: Exemplificação do método utilizado para a mensuração da espessura média de cada uma das três camadas analisadas utilizando o software Image Pro Plus	42
Figura 16: Exemplificação do método utilizado para a mensuração da altura de cada uma das dobras gástricas utilizando o software Image Pro Plus	43
Figura 17: Exemplificação do método utilizado para a mensuração da largura média de cada uma das dobras gástricas utilizando o software Image Pro Plus.....	43
Figura 18: Método de avaliação da intensidade da coloração através dos sistemas de cor RGB, com software Image Pro Plus	44
Figura 19: Método de avaliação da intensidade da coloração com o software Image Pro Plus.....	45
Figura 20: Microscopia de luz das quatro camadas histológicas da parede estomacal de <i>Notothenia rossii</i>	46
Figura 21: Microscopia de luz do epitélio de revestimento	47
Figura 22: Microscopia de luz da lâmina própria e as glândulas gástricas	48
Figura 23: Microscopia de luz detalhando as glândulas gástricas.....	48
Figura 24: Microscopia de luz da subcamada muscular da camada mucosa da região pilórica do estômago de <i>Notothenia rossii</i>	49
Figura 25: Espessura média da camada mucosa das três regiões estomacais de <i>Notothenia rossii</i> controle mantidas a temperatura de 0°C durante 96 horas	50

Figura 26: Espessura média da camada submucosa de <i>Notothenia rossii</i> controle mantidas a temperatura de 0°C durante 30 dias	51
Figura 27: Espessura média da camada muscular das três regiões estomacais de <i>Notothenia rossii</i> mantidas durante (A) 24 horas e (B) 15 dias em 0°C	52
Figura 28: Espessura média da camada mucosa da região cárdica de <i>Notothenia rossii</i> nos grupos analisados	53
Figura 29: Espessura média da camada mucosa da região fúndica de <i>Notothenia rossii</i> nos grupos analisados	54
Figura 30: Espessura média da camada mucosa da região pilórica de <i>Notothenia rossii</i> nos grupos analisados	54
Figura 31: Espessura média da camada submucosa da região cárdica de <i>Notothenia rossii</i> nos grupos analisados	55
Figura 32: Espessura média da camada submucosa da região fúndica de <i>Notothenia rossii</i> nos grupos analisados	56
Figura 33: Espessura média da camada submucosa da região pilórica de <i>Notothenia rossii</i> nos grupos analisados	56
Figura 34: Espessura média da camada muscular da região cárdica de <i>Notothenia rossii</i> nos grupos analisados	57
Figura 35: Espessura média da camada muscular da região fúndica de <i>Notothenia rossii</i> nos grupos analisados	58
Figura 36: Espessura média da camada muscular da região pilórica de <i>Notothenia rossii</i> nos grupos analisados	58
Figura 37: Altura média das dobras gástricas da região cárdica de <i>Notothenia rossii</i> mantidas nas três variáveis de temperatura durante 15 dias	60
Figura 38: Altura média das dobras gástricas da região fúndica de <i>Notothenia rossii</i> mantidas nas três variáveis de temperatura durante 96 horas	60
Figura 39: Altura média das dobras gástricas da região pilórica de <i>Notothenia rossii</i> mantidas nas três variáveis de temperatura durante 24 horas	61
Figura 40: Exemplificação da variação da largura ao longo do eixo de cada uma das dobras gástricas utilizando o software Image Pro Plus	63
Figura 41: Largura média das dobras gástricas da região cárdica de <i>Notothenia rossii</i> mantidas nas três variáveis de temperatura durante (A) 15 dias e (B) 30 dias	63
Figura 42: Largura média das dobras gástricas da região fúndica de <i>Notothenia rossii</i> mantidas nas três variáveis de temperatura durante 30 dias	64
Figura 43: Largura média das dobras gástricas da região cárdica de <i>Notothenia rossii</i> mantidas nas três variáveis de temperatura durante (A) 96 horas e (B) 15 dias	64

Figura 44: Microscopia de luz indicando o padrão apresentado diante da reação com o Ácido Periódico de Schiff (PAS)	65
Figura 45: Microscopia de luz mostrando o padrão observado com a coloração de Alcian Blue pH 2,5 no estômago de <i>Notothenia rossii</i> mantido a 0°C por 30 dias	66
Figura 46: Microscopia de luz mostrando a reação negativa com a coloração de Alcian Blue pH 1,0 no estômago de <i>Notothenia rossii</i> mantido a 0°C por 30 dias	66
Figura 47: Microscopia de luz mostrando as diferentes intensidades da reação com o Ácido Periódico de Schiff (PAS). A. Peixe controle (0°C-24 horas). B. Peixe experimental (8°C-24 horas)	67
Figura 48: Microscopia de luz mostrando as diferentes intensidades da reação com o Ácido Periódico de Schiff (PAS) demonstrando a presença de glicosaminoglicanos neutros na região cárdica do estômago de <i>Notothenia rossii</i> . A. Peixe controle (0°C-15 dias). B. Peixe experimental (4°C-15 dias). C. Peixe experimental (8°C-15 dias) ..	68
Figura 49: Expressão de glicosaminoglicanos neutros da região cárdica do estômago de <i>Nothotenia rossii</i>	69
Figura 50: Microscopia de luz mostrando as diferentes intensidades da reação com o Ácido Periódico de Schiff (PAS) demonstrando a presença de glicosaminoglicanos neutros na região fúndica do estômago de <i>Notothenia rossii</i> . A. Peixe controle (0°C-96 horas). B. Peixe experimental (4°C-96 horas). C. Peixe experimental (8°C-96 horas)	69
Figura 51: Expressão de glicosaminoglicanos neutros da região fúndica do estômago de <i>Notothenia rossii</i>	70
Figura 52: Expressão de glicosaminoglicanos neutros da região pilórica do estômago de <i>Notothenia rossii</i>	71
Figura 53: Microscopia de luz mostrando as diferentes intensidades da reação com o Alcian Blue pH 2,5. A. Peixe controle (0°C-96 horas). B. Peixe experimental (8°C-96 horas)	72
Figura 54: Densidade relativa de glicosaminoglicanos ácidos (Alcian blue pH 2,5) da região cárdica do estômago de <i>Notothenia rossii</i> . A. 24 horas. B. 96 horas.....	72
Figura 55: Microscopia de luz mostrando as diferentes intensidades da reação com o Alcian Blue pH 2,5 na região cárdica do estômago de <i>Notothenia. rossii</i> . A. Peixe controle (0°C-30 dias). B. Peixe experimental (8°C-30 dias).....	73
Figura 56: Expressão de glicosaminoglicanos ácidos (Alcian Blue pH 2,5) da região cárdica do estômago de <i>Notothenia rossii</i>	73
Figura 57: Expressão de glicosaminoglicanos ácidos (Alcian Blue pH 2,5) da região fúndica do estômago de <i>Notothenia rossii</i>	74
Figura 58: Expressão de glicosaminoglicanos ácidos (Alcian Blue pH 2,5) da região pilórica do estômago de <i>Notothenia rossii</i>	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Média das espessuras da camada mucosa encontradas nos experimentos realizados a 0°C nas regiões cárdica, fúndica e pilórica em 24 horas, 96 horas, 15 dias e 30 dias.	49
Tabela 2. Média das espessuras da camada submucosa encontradas nos experimentos realizados a 0°C nas regiões cárdica, fúndica e pilórica em 24 horas, 96 horas, 15 dias e 30 dias.	50
Tabela 3. Média das espessuras da camada muscular encontradas nos experimentos realizados a 0°C nas regiões cárdica, fúndica e pilórica em 24 horas, 96 horas, 15 dias e 30 dias.	51
Tabelas 4. Média da altura das dobras gástricas encontradas nos experimentos realizados nas regiões cárdica (A), fúndica (B) e pilórica (C).	59
Tabelas 5. Média da largura das dobras gástricas encontradas nos experimentos realizados nas regiões cárdica (A), fúndica (B) e pilórica (C).	62

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	viii
LISTA DE TABELAS	xi
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Continente Antártico.....	16
2.2 Península Antártica	22
2.3 Peixes antárticos.....	25
2.4 Sistema digestório.....	29
3. OBJETIVOS.....	33
4. MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1 Coleta e aclimação.....	34
4.2 Arranjo experimental	36
4.3 Processamento histológico e histoquímico	39
4.4 Análises morfométricas e histoquímicas	41
5. RESULTADOS.....	46
5.1 Estrutura padrão e resultados histomorfométricos do estômago	46
5.2 Resultados histomorfométricos do estômago submetido ao estresse térmico.....	52
5.2.1 Altura das dobras gástricas	59
5.2.2 Largura das dobras gástricas	61
5.3 Resultados histoquímicos – estrutura padrão do estômago de <i>N. rossii</i>	65
5.4 Resultados histoquímicos – estômago de <i>N. rossii</i> submetido ao estresse térmico	67
5.4.1 Detecção de glicosaminoglicanos neutros.....	67
5.4.2 Detecção de glicosaminoglicanos ácidos	71
6. DISCUSSÃO	76
7. CONCLUSÕES	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85

1. INTRODUÇÃO

Estudos afirmam que a Península Antártica, o Ártico e parte da Sibéria apresentam temperaturas mais elevadas que o restante do planeta quando fazemos uma análise temporal (SIRVINSKAS, 2011; TURNER, 2005; TURNER, 2007; MACHADO, 2009). As consequências do aquecimento global na Antártica são a retração das geleiras, o colapso nas plataformas de gelo e a exposição de habitats que antes ficavam cobertos de gelo (CLARKE *et al.*, 2007). Em decorrência do pequeno distanciamento entre as ilhas subantárticas (local deste estudo) com a fronteira polar Antártica, esses ecossistemas tornam-se vulneráveis a eventuais elevações da temperatura (DI PRISCO, 2000; ROMÃO *et al.*, 2001).

A temperatura é um dos fatores ecológicos de extrema importância no continente Antártico, já que afeta os organismos vivos direta ou indiretamente, determinando a taxa e a forma de desenvolvimento das reações químicas (atividade hidrolítica das enzimas digestivas) e dos processos metabólicos (taxas de alimentação, motilidade gástrica e intestinal, e, taxas de absorção intestinal). A temperatura também afeta as condições da água e modifica as propriedades básicas da matéria viva (KAPOOR, 1975 *apud* MARQUES *et al.*, 1992; DIAS, 1998; SILVA e ARAÚJO-LIMA, 2003).

Os peixes possuem uma faixa de tolerância para mais e/ou para menos na variação da temperatura da água, havendo uma temperatura ótima para o crescimento, reprodução, melhor conversão alimentar e resistência a doenças. Estudos (PERCEBON *et al.*, 2005; PREVIATO, 2009; CYRINO *et al.* 2010) mostram que mudanças na temperatura da água modificam a exigência nutricional (frequência e intensidade da alimentação) dos peixes, determinada pelo acréscimo ou decréscimo nas taxas de crescimento, na atividade, e, conseqüentemente, no consumo de oxigênio. Sabe-se que com a elevação da temperatura e redução da pressão, ocorre o decréscimo da solubilidade da molécula de O₂ na água (FERREIRA *et al.*, 2009). Além disso, a elevação da temperatura pode induzir a um aumento da toxicidade na água de determinados compostos químicos (BARROSO, 2009).

A grande diversidade da Superclasse Pisces é consequência direta da adaptação dos mesmos às condições ambientais de seus habitats, levando-se em

consideração a disponibilidade e o tipo de alimento a ser ingerido. Sabe-se que apenas 1% das espécies de peixes conhecidas atualmente pertencem ao ecossistema antártico (EASTMAN, 1993). Uma das razões que caracteriza essa baixa diversidade é o regime de luz, o qual é um fator limitante para a disponibilidade de alimento (FISHER e HUREAU, 1988). Os nototeniídeos antárticos são extremamente bem adaptados às baixas temperaturas, presença de gelo no mar, redução de habitat e grande sazonalidade na produção primária (EASTMAN, 1985; CLARKE e JOHNSTON, 1996).

Os peixes antárticos apresentam dieta onívora oportunista e generalista, priorizando a captura de presas com maior valor energético, ou então, as disponíveis no meio (BARRERA-ORO e CASAUX, 1990). A dieta consiste predominantemente de anfípodas, observando-se também poliquetas, isópodas, gastrópodas e bivalves (BELLISIO, 1964; KNOX, 1994; BUSHULA *et al.*, 2005; LA MESA *et al.*, 2006; BARRERA-ORO & PIACENTINO, 2006, SMITH *et al.*, 2007). O tamanho, a quantidade de presas consumidas e a diversidade das espécies predadas apresentam flutuações conforme a natureza do alimento, a estação do ano, a fase de desenvolvimento ou o sexo, em decorrência das diferentes necessidades energéticas ao longo da vida do peixe (KNOX, 1994; SILVA e ARAÚJO-LIMA, 2003; MACIEL, 2006). Além dos fatores já citados, vale destacar que a variedade na dieta de peixes segue um padrão pré-estabelecido pela forma do tubo digestivo (FUGI & HAHN, 1991 *apud* MORAES, 1997), o que vem a refletir no comportamento do indivíduo e conseqüentemente na estrutura anatômica, histológica e ultraestrutural do sistema digestório, destacando-se o estômago.

O estômago é órgão que apresenta as maiores adaptações quanto à dieta alimentar, assumindo diversas morfologias, as quais têm direta relação com a natureza do alimento ingerido. Secundariamente, de acordo com Pillay (1952 *apud* MONTENEGRO, 2009), as tendências alimentares são dependentes da composição e da quantidade do alimento disponível. O peixe em estudo, *Nototothenia rossii* (Figura 14) apresenta o estômago em forma de “J”, o qual anatomicamente é dividido em região anterior (cárdica); região mediana (fúndica) e região posterior (pilórica). Em microscopia óptica observam-se quatro camadas distintas da parede estomacal: mucosa, seguida pela submucosa, muscular e serosa (DI FIORE *et al.*, 1982).

Diante do exposto, e considerando-se os poucos estudos realizados com o sistema digestório de *Notothenia rossii*, o presente trabalho visa conhecer características histológicas e histoquímicas da estrutura estomacal da espécie frente às condições adversas de temperatura, isto é, ao estresse térmico. Além de ampliar o conhecimento a respeito da biologia das espécies de peixes antárticos, este estudo pode auxiliar na aplicação de medidas para a proteção desse ecossistema sujeito a alterações inerentes à elevação da temperatura global.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Continente Antártico

De acordo com a Teoria da Deriva Continental proposta em 1912 pelo geofísico alemão Alfred Wegener, há cerca de 200 milhões de anos, durante a era Mesozóica, o Pangéia (Figura 1A) começou a separar-se formando os dois supercontinentes Laurásia e Gondwana (Figura 1B). O primeiro era formado pela maior parte das regiões de terra firme que hoje constituem os continentes do Hemisfério Norte (América do Norte e Euroásia) enquanto a Antártica, América do Sul, África, Madagascar, Índia e Oceania formavam o supercontinente Gondwana. O processo de separação continuou nessas duas grandes porções de terra, e dessa forma, os continentes atuais foram originados (Figura 1C). Vale lembrar que a formação da Península Antártica ocorreu com a separação do supercontinente Gondwana. Tais fatos podem ser confirmados pela análise de dados obtidos com o estudo de rochas, fósseis, erosão de geleiras, recifes de corais, depósitos de carvão, mapeamento genético da fauna e flora, entre outros (EICHER, 1982).

Por milhares de anos o Gondwana dividiu-se e a Antártica como é conhecida hoje se formou por volta de 25 milhões de anos. No período Cambriano, entre 540 e 250 milhões de anos, o clima no Gondwana era ameno. A Antártica Ocidental estava parcialmente no hemisfério norte e a Antártica Oriental estava no equador. No início do período Devoniano (416 milhões de anos) pelo movimento das placas tectônicas o supercontinente Gondwana estava em latitudes mais ao sul e o clima era mais frio. A glaciação começou no fim do período Devoniano (360 milhões de anos) movendo-se em direção ao pólo sul e o clima esfriou ainda mais. Como resultado de um aquecimento contínuo, que se iniciou no fim do Permiano (entre 250 e 65 milhões de anos), a cobertura de gelo polar derreteu e grande parte do supercontinente transformou-se em um deserto. A Península Antártica começou a se formar durante o período Jurássico (entre 206 e 146 milhões de anos), e as ilhas subantárticas emergiram gradualmente do oceano. Foi durante esse período que o Gondwana começou a separar-se (EICHER, 1982; LLORENTE *et al.*, 1996).

A África separou-se da Antártica por volta de 160 milhões de anos atrás, seguida da Índia no início do Cretáceo (aproximadamente 125 milhões de anos). Há

65 milhões de anos, a Antártica (ainda conectada a Austrália) tinha um clima entre tropical e subtropical. Há 40 milhões de anos, a Austrália unida à Nova Guiné separou-se da Antártica e o gelo começou a aparecer, iniciava-se a derivação continental. Peixes antárticos apresentam afinidades biogeográficas com formas da Austrália, confirmando que a Antártica foi uma parte integrante do Gondwana. Entre 30 a 14 milhões de anos atrás, o surgimento da passagem de Drake entre a Antártica e a América do Sul resultou no aparecimento da Corrente Circumpolar Antártica, tornando o continente antártico isolado dos outros continentes, tanto climática quanto biologicamente. Durante 20 milhões de anos sua temperatura diminuiu gradualmente, estimando-se que o ecossistema antártico esteja abaixo de 0°C a 3 ou 5 milhões de anos (JOHNSTON *et al.*, 1991).

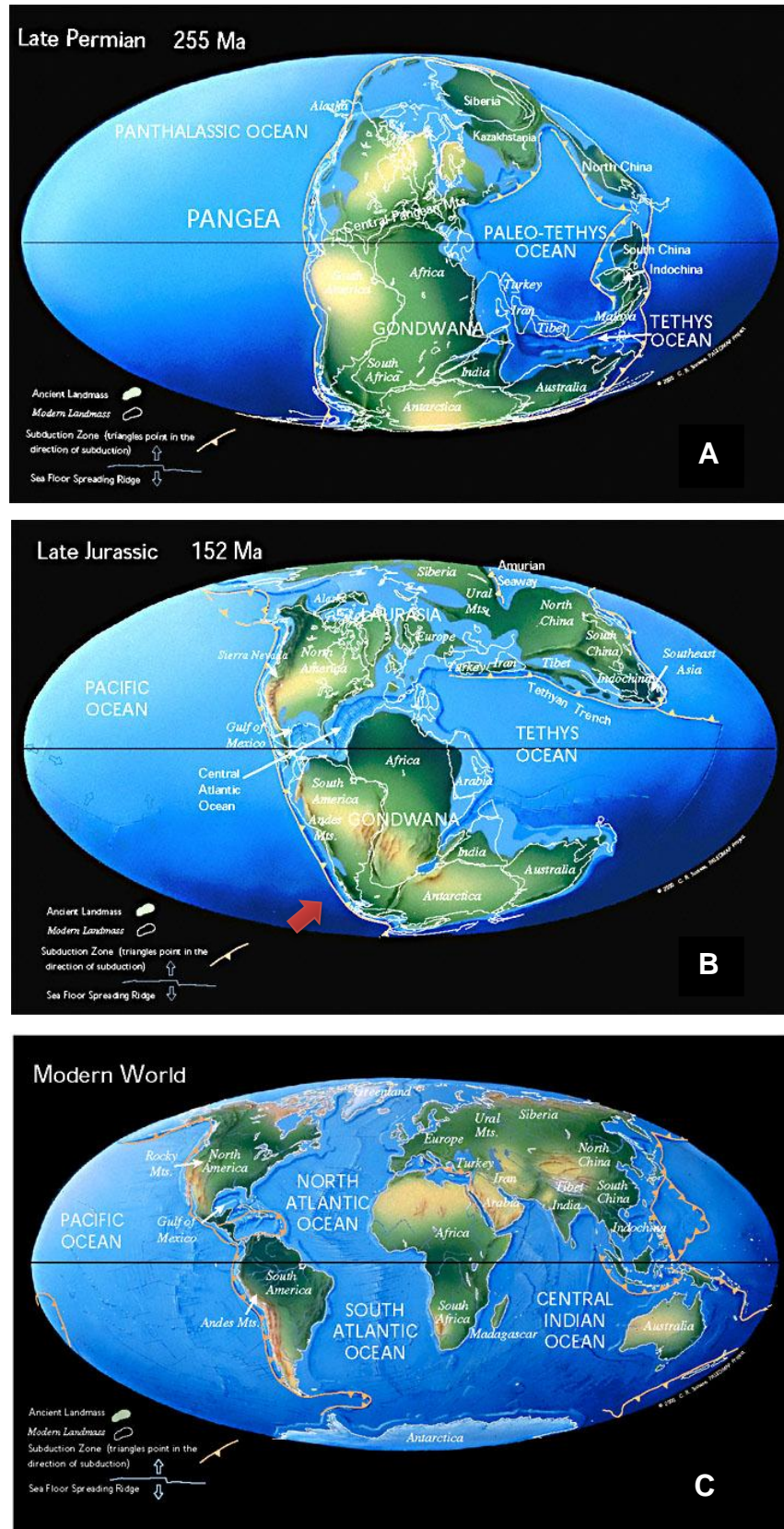



Figura 1. A. Supercontinente Pangéia há aproximadamente 200 milhões de anos. B. Supercontinentes Laurásia e Gondwana após fragmentação do Pangéia. Observar () a Península Antártica. C. Posição geográfica atual dos continentes. Fonte: Scotese, 2010.

rusa de Vostok, a aproximadamente 3.400 metros de altitude no dia 23 de julho de 1983 (MACHADO e BRITO, 2006; IZAGUIRRE e MATALONI, 2000). Devido a sua posição geográfica os dias de inverno na Antártica são predominantemente de escuridão enquanto que os de verão são de claridade. A maior parte da luz é refletida (85%) e pouco calor é absorvido, devido a presença de gelo, que só não cobre 2% do território, no verão. Como efeito pode-se observar que o regime de luz é um dos fatores determinantes para a flutuação da produtividade primária na região, sendo responsável pela quantidade de biomassa disponível (EASTMAN, 1993).

A precipitação média anual é em torno de 50 mm. Contudo há uma grande variação de região para região, isto é, valores maiores na Península Antártica (600-1500 mm) a valores muito baixos, semelhantes aos de um deserto, no interior do continente (20-50mm). A maior parte da precipitação na Antártica ocorre na forma de neve (IZAGUIRRE e MATALONI, 2000). Cerca de 90% do gelo e de 70 a 80% da água doce do planeta estão armazenados na calota de gelo da Antártica (GUTTERREZ, 2003; FELICIO, 2006; JESUS e SOUZA, 2007). O peso do gelo tem afundado o continente e a plataforma continental em vários metros. Assim, uma considerável porção da massa de terra da Antártica encontra-se abaixo do nível do mar. Por outro lado, algumas altas montanhas projetam-se por mais de 2000 metros acima da superfície de gelo (EASTMAN, 1993). Também é um continente com ventos fortes, registrando-se ventos com velocidades superiores a 140 km/h nas regiões costeiras. No interior, entretanto, as velocidades são tipicamente moderadas (IZAGUIRRE e MATALONI, 2000). O relevo é marcado pela cordilheira Transantártica, prolongamento geológico dos Andes, que divide o continente em Antártica Oriental, com planícies, colinas baixas e a geleira Lambert, a maior do mundo, e Antártica Ocidental, com arquipélagos ligados pela cobertura de gelo permanente.

Dentre os problemas que atingem atualmente a região antártica temos o aquecimento global, observado nas águas em volta deste e/ou do ar em sua superfície nos últimos 200 anos. Este aquecimento ocorreu em especial na Península Antártica, entre as latitudes 65° e 70°S, onde se observou um aquecimento mais acentuado do que no resto do continente (aproximadamente 2°C) nos últimos 50 anos (KING & HARANGOZO, 1998; TURNER *et al.*, 2005). Smith *et*

al. (2007) demonstraram que essa tendência é mais acentuada no inverno. Por outro lado, no Pólo Sul registra-se um resfriamento de cerca de $-0,2^{\circ}\text{C}$ por década (TURNER *et al.*, 2005; 2007). As correntes de ar quente que chegam ao continente passando por cima das cadeias montanhosas no verão, estão mais quentes. Uma evidência do aumento de dias com temperaturas positivas foi o desprendimento da geleira Larsen B (no leste da Península Antártica), com cerca de 3250 km² e 200 metros de espessura em menos de um mês, em 2002 (MENDES JÚNIOR *et al.*, 2009). Portanto, como resultado do aumento da temperatura observa-se o descongelamento das geleiras (VAUGHN, 1993), os impactos nas cadeias alimentares e o aumento do nível do mar no planeta.

O principal meio pelo qual ocorrem as trocas de energia, calor e massa entre os Oceanos Atlântico, Índico e Pacífico é o Oceano Austral. Essas trocas podem representar papel significativo no controle do clima mundial (PEREIRA *et al.*, 2004). A variabilidade no Oceano Austral tem profunda influência na distribuição de temperatura e chuva do continente antártico e do sul-americano. Massas d'água formadas na Antártica se deslocam, ventilando outros oceanos e influenciando o clima e a riqueza das águas costeiras que banham os continentes. Os estoques pesqueiros na Região Sul são fortemente influenciados pelas características hidrológicas específicas do Oceano Austral. O Oceano Austral tem também um papel importante na troca de CO₂, um dos principais gases do efeito estufa, entre a água do mar e a atmosfera (EKAU, 1991 *apud* MACHADO, 2006).

A Antártica é uma das últimas áreas do planeta na qual as atividades humanas tiveram um impacto mínimo (CAMPOS, 2007). A Antártica possui comunidades biológicas marinhas ricas e diversas. Os organismos que vivem nos fundos marinhos, debaixo do gelo, são únicos, já que apresentam um alto grau de endemismo (BESSA *et al.*, 2007; PÖRTNER *et al.*, 2007). Os organismos antárticos possuem uma tolerância muito baixa a alterações na temperatura (PECK *et al.*, 2004; PÖRTNER *et al.*, 2007; ROBINSON e DAVISON, 2008), sendo vulneráveis ao aquecimento global. Isso ocorre por serem organismos de desenvolvimento lento, consequentemente, danos causados a esses seres podem ser irreversíveis. A importância científica é extrema, visto que suas características podem esclarecer questões de âmbito regional ou até mesmo global, ou seja, desde a fisiologia de um peixe até a compreensão do meio ambiente global.

Diante de tais características, juridicamente, a Antártica foi designada como reserva natural, consagrada à paz e à ciência, pelo Protocolo de Madri - Protocolo ao Tratado da Antártica que dispõe sobre a proteção ao meio ambiente da Antártica. Ficou assegurado que a Antártica seja exclusivamente utilizada para fins pacíficos e não se converta em cenário ou em objeto de discórdia internacional. Tal protocolo visa limitar os impactos negativos sobre o meio ambiente antártico e os demais ecossistemas, estabelecendo rigorosas regras à eliminação de resíduos e medidas preventivas contra a poluição marinha, além de avaliar o impacto ambiental das atividades desenvolvidas na região.

2.2 Península Antártica

A Península Antártica (Figura 3B) é formada por montanhas com 1500 m de altitude média, sendo que os picos mais altos podem atingir 2800m de altitude. Considera-se que essas montanhas são uma continuação dos Andes, na América do Sul. No sentido norte-sul são mais de 2500 km de extensão (SOUZA, 2010). Localiza-se no Hemisfério Ocidental, relativamente perto da América do Sul, sendo a parte mais setentrional do continente Antártico. Nessa região encontra-se a “Zona de Convergência Antártica” onde as águas frias do Oceano Austral, formadas sob as plataformas de gelo do continente antártico, submergem sob as águas mais quentes dos oceanos Atlântico e Pacífico, afetando as condições locais de tempo. Durante os meses de verão, quando a temperatura do ar se eleva acima do ponto de congelamento, ocorre fluxo d’água de derretimento das geleiras e da neve sazonal nas áreas costeiras. Isso é mais importante nas regiões situadas na periferia do continente, ou seja, na Península Antártica e nas ilhas Shetlands do Sul (Figura 3C), onde as temperaturas de verão são mais altas e onde o derretimento expõe o solo ou a rocha (MICHEL, 2005; BREMER, 2008).

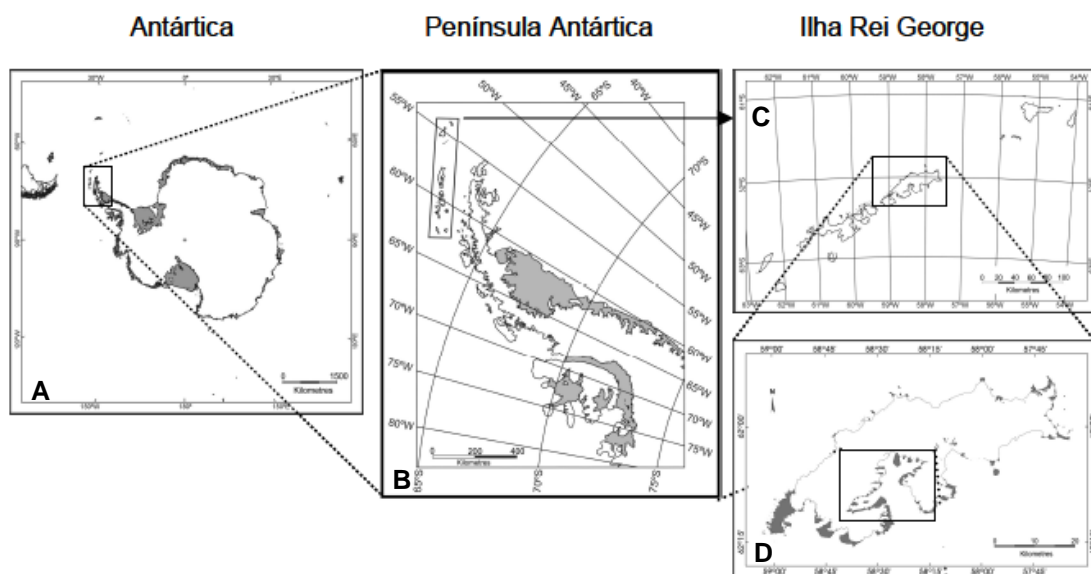


Figura 3. **A.** Mapa do continente antártico. Em cinza, as plataformas de gelo. **B.** Observar a Península Antártica e ao norte as Ilhas Shetlands do Sul. **C.** Arquipélago das Shetlands do Sul, onde se encontra a Ilha Rei George. **D.** Mapa Ilha Rei George. A área em destaque refere-se ao local de estudo, Baía do Almirantado. Fonte: Simões *et al.*, 2004.

A Ilha Rei George (ou Jorge ou 25 de Mayo; Figuras 3C/D e 4) é a maior das ilhas do Arquipélago das Shetlands do Sul, um conjunto de 62 ilhas e 52 rochedos localizados a oeste da Península Antártica. A Ilha situa-se entre as coordenadas $61^{\circ}50' - 62^{\circ}15'S$ e $57^{\circ}30' - 59^{\circ}00'W$ (BINTANJA, 1995). Possui uma área de aproximadamente 1300 km² e tem 90% da superfície coberta de gelo ao longo de todo o ano, sendo que as áreas de terras livres situam-se principalmente nas praias. Seu clima é determinado pela passagem de sucessivos sistemas ciclônicos, transportando ar aquecido e úmido, fortes ventos e grande volume de precipitação (BINTANJA, 1995). O arquipélago encontra-se entre a passagem de Drake e o estreito de Bransfield (DUARTE, 2006). As características são típicas de um clima marítimo, com pequena variação na temperatura atmosférica durante o ano, alta umidade relativa do ar e grande cobertura de nuvens (RAKUSA-SUSZCZEWSKI *et al.*, 1993; WEN *et al.*, 1994). Segundo Barsch *et al.* (1985), o clima pode ser classificado como polar oceânico do hemisfério sul (Etf, de acordo com a classificação de Köppen). A umidade relativa está quase sempre acima dos 80%, apresentando uma média anual de 85,2%. É na Ilha Rei George que está situada a Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF) (Figura 5).

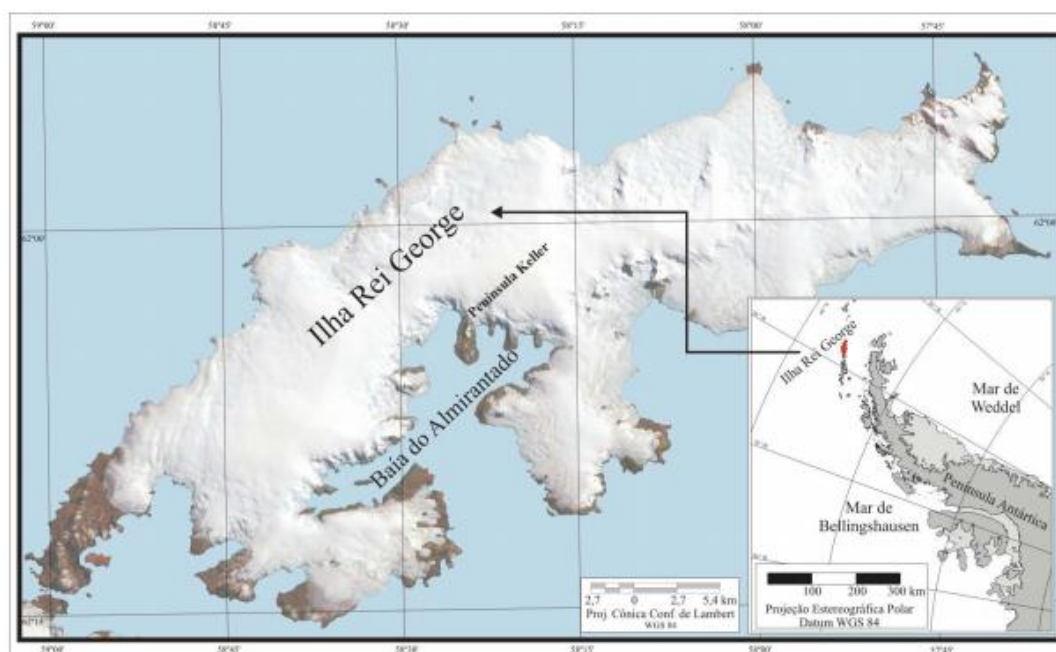


Figura 4. Localização da Baía do Almirantado, na Ilha Rei George. Área em que houve a coleta dos organismos utilizados neste trabalho. Fonte: Dani *et al.*, 2005.



Figura 5. Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF). Foto: Maria Rosa D. Pedreiro.

A Baía do Almirantado localizada na Ilha Rei George (Figuras 3D e 4) possui 131 km², apresentando costa litorânea que se estende desde Demay Point até Punta Martins, totalizando uma extensão de 91 km. É a maior baía da Ilha Rei George

(CAMPOS, 2007), e, cerca de 14,50 % da área total constituem a área livre de gelo. A baía localiza-se na latitude de 62°09'S e longitude 58°26'W, formando juntamente com a Península Antártica, as duas barreiras físicas limites do Estreito de Bransfield. Toda a região da Baía do Almirantado – incluindo terra e mar – foi classificada como Área Antártica Especialmente Gerenciada (AAEG), significando que todos os países ali instalados, devem administrar a região, por meio de um plano de manejo apropriado, a fim de evitar impactos cumulativos (CAMPOS, 2007). Apresenta profundidade máxima excedendo os 500 m, sendo semelhante a um fiorde com área central em formato de “U”, típico destas regiões. As Enseadas Mackellar e Martel constituem a porção norte da baía e a Enseada Ezcurra corresponde à porção oeste. Ao sul, a baía abre-se amplamente para o Estreito de Bransfield, através de um canal de 500 m de profundidade, recebendo águas de oeste derivadas do Mar de Bellingshausen. “*Pack-ice*” e *icebergs* são trocados, estando seus transportes associados à enorme energia física no ambiente, podendo influenciar o plâncton superficial e o benton da zona costeira. As marés constituem o principal fator responsável pela circulação dentro da baía e mistura de águas com Estreito de Bransfield (RAKUSA-SUSZCEWSKI, 1993 *apud* BESSA *et al.*, 2007, BROMBERG, 1999).

2.3 Peixes antárticos

O grupo dominante de peixes antárticos pertence à superordem Actinopterygii (EVANS, 1993), da ordem dos Perciformes, subordem Notothenioidei, a qual consiste de oito famílias, sendo elas: Bovichtidae, Pseudaphritidae, Eleginopidae, Nototheniidae, Harpagiferidae, Artedidraconidae, Bathydraconidae e Channichthyidae; e, 129 espécies (EASTMAN, 2005). A família Nototheniidae é a dominante sendo representada por 38% das espécies conhecidas na região Antártica, lembrando que a subordem Notothenioidei compreende aproximadamente 77% das espécies (EASTMAN, 2005). Possui 12 gêneros e aproximadamente 49 espécies, apresentando grande variabilidade em relação ao tamanho, forma corpórea, habitat e distribuição (EASTMAN e EAKIN, 2000; EASTMAN, 2005).

No oceano austral ocupam todos os habitats bênticos e coluna d'água, sendo responsável por cerca de 91% da biomassa (HUREAU, 1970 *apud* EKAU, 1991; EASTMAN, 2005). Estes peixes são tão lentos que quase não se deslocam (HUREAU, 1966; 1994).

Distribuição: Os peixes da família Nototheniidae estão largamente distribuídos pelo oceano ocorrendo nas altas latitudes do hemisfério Sul e na região costeira da Antártica (regiões mais rasas) (KOCK, 1992; CAMPOS, 2007).

Notothenia rossii (Richardson, 1844) está presente no extremo norte da Península Antártica, Arquipélago das Shetlands do Sul, Órcades do Sul e Geórgia do Sul, Arco Scotia, Ilhas Príncipe Edward, Crozet, Kerguelen, Heard e Macquarie, e até nos Bancos Ob and Lena (HUREAU, 1966; CARDOSO, 2005; FISHBASE, 2011).

Ecologia: A maioria dos nototenídeos vive próxima ao fundo do mar, desde regiões costeiras e rasas até profundidades de até 3 mil metros.

Devido à limitação da luz na Antártica, há uma tendência para a dominância de mecanorreceptores (linha lateral), e quimiorreceptores (roseta olfatória, narinas e lábios) em espécies de nototenídeos. Estas adaptações permitem a procura de alimento, mecanismos de defesa e de procura de parceiros para a reprodução, além de outras interações com o ambiente. Enquanto que no verão, utilizam principalmente os fotorreceptores presentes na retina, possibilitando que a atividade alimentar ocorra eficazmente dependendo do fotoperíodo. Isto é uma vantagem, pois as suas presas têm uma maior atividade noturna, além de protegerem-se de seus predadores, os quais têm hábitos diurnos, como as aves e as focas (DONATTI e FANTA, 2002; MACHADO, 2006).

Vale lembrar ainda que a sazonalidade luminosa encontrada na região antártica limita a quantidade de biomassa e a produtividade primária do oceano (EASTMAN, 1993). Devido a isso os organismos ali presentes, em especial os peixes, desenvolveram hábitos alimentares e mecanismos fisiológicos que lhes permitiu o acúmulo maior de alimentos e consequente armazenagem de lipídios durante o verão, para que durante o inverno a energia acumulada esteja disponível para a reprodução (crescimento das gônadas e desova) (CLARKE, 1988 *apud* CARDOSO, 2005).

Morfologia: *Notothenia rossii* possui 4 a 7 espinhos flexíveis, 32 a 36 raios moles dorsais nas nadadeiras dorsais, e a mesma faixa de raios na nadadeira anal. Já, as nadadeiras peitorais são largas, com 21 a 24 raios. *N. rossii* apresenta cabeça e corpo levemente comprimidos lateralmente, boca oblíqua e maxila estendendo-se posteriormente até a parte mediana ou posterior do olho, a maxila inferior é minimamente protusa (FISHER e HUREAU, 1985 *apud* CARDOSO, 2005; FISHBASE, 2011).

Coloração: O padrão de coloração de *Notothenia rossii* juvenil varia do amarelo a marrom ou laranja. Já os adultos apresentam coloração marrom claro, com o dorso mais escuro e pontos negros mais ou menos distintos, distribuídos ao longo do corpo (BURCHETT, 1983; FISHER e HUREAU, 1985 *apud* CARDOSO, 2005).

Dieta alimentar: A dieta alimentar de *Notothenia rossii* varia ao longo dos estágios de crescimento de seu ciclo de vida (HUREAU, 1970; BARRERA-ORO e WINTER, 2008). Os estágios pós-larva alimentam-se principalmente de larvas de crustáceos e outros zooplânctons pequenos. Pequenos juvenis alimentam-se de copépodos planctônicos, anfípodos, larvas de peixes e larvas de decápodos. Juvenis maiores permanecem nos bancos de macroalgas e alimentam-se principalmente de peixes, eufasídeos, isópodos, anfípodos e algas junto com pequenas quantidades de outros grupos como poliquetas, gastrópodos e decápodos. As algas são um alimento regular e não são ingeridas acidentalmente (BELLISIO, 1964; BURCHETT, 1983). Adultos de *Notothenia rossii* ingerem principalmente ctenóforos, hidrozoários, anfípodos, eufasídeos e peixes, dependendo da oportunidade dos organismos-presa. Os anfípodos representam, aproximadamente 66% da dieta (HUREAU, 1970; LAWS, 1984; CARDOSO, 2005; BARRERA-ORO e WINTER, 2008). O amplo espectro trófico decorre da baixa diversidade de peixes e consequentemente da competição pouco intensa (TARGETT, 1981 *apud* CARDOSO, 2005).

Crescimento: *Notothenia rossi* tem baixo ritmo de crescimento, principalmente no inverno. Acredita-se que seja uma estratégia ecológica, pois maximiza a aquisição de alimentos e minimiza o custo energético para sobreviver. O tamanho máximo é de 92 cm (FISHBASE, 2011). Numa determinada fase da vida de *N. rossi* há um crescimento muito rápido, o qual está provavelmente relacionado à

mudança na dieta de invertebrados bentônicos para o *krill* (LAWS, 1984; BARRERA-ORO e WINTER, 2008).

Reprodução: O baixo ritmo de crescimento e a vida longa são características da maioria dos peixes antárticos. Como consequência direta muitos não alcançam a maturidade sexual antes dos 5 anos. O desenvolvimento das gônadas e a maturação gonadal ocorrem sincronicamente nos indivíduos de mesma espécie, e como resultado, a época de desova é geralmente de duração limitada. Reproduzem-se anualmente (LAWS, 1984). Na década de 1970, foi altamente explorada pela indústria pesqueira, levando a uma redução alarmante do número de indivíduos. Como sua taxa de reprodução é baixa, sua pesca comercial está proibida (OLASO, 2006). Tal atividade é monitorada pela CCAMLR (*Comission for the Conservation of Antarctic Marine Living Resources*) (CARDOSO, 2005; OLASO, 2006; CCAMLR, 2011).

Adaptações: A relativa estabilidade do ambiente térmico tem permitido aos peixes antárticos evoluir de tal forma que todo seu metabolismo é mais eficiente à baixa temperatura. Por isso, há uma alternância entre alimentação, reprodução e crescimento frente ao baixo nível de energia metabólica disponível para ser despendida nessas atividades. Para compensar a baixa taxa metabólica, tiveram que desenvolver alguns mecanismos de adaptação para a sobrevivência neste ambiente. Tais como a estenotermia, resultado direto da contínua baixa da temperatura ambiente a que os nototenídeos estão expostos (LAWS, 1984) e a resistência ao congelamento / adaptação à salinidade em que a água do mar possui o ponto de congelamento em torno de $-1,8^{\circ}\text{C}$, sendo dependente quase que exclusivamente da salinidade. Isto é, quanto maior a salinidade, menor o ponto de congelamento. Por isso, os peixes que vivem no ambiente marinho antártico necessitam de mecanismos para ajustar a quantidade de sal em seu organismo, visto que no verão e no inverno as proporções de água e sal encontradas são diferentes (LAWS, 1984; ROMÃO *et al.*, 2001; PRODÓCIMO, 2006).

Os peixes antárticos têm ligeiramente mais íons sódio e cloreto em seu sangue quando comparados com peixes de ambientes temperados. O ponto de congelamento do seu sangue é ainda menor do que o ponto de congelamento de água do mar. Além disso, possuem uma série de glicoproteínas, as quais possuem propriedades anticongelantes (AFGPs- *AntiFreeze GlicoProteins*) (CHEN *et al.*,

1997; CHENG *et al.*, 2003; HARDING *et al.*, 2003; JIN e DEVRIES, 2006) . Esta macromolécula é composta por grupos que envolvem repetições dos aminoácidos alanina e treonina e os açúcares galactose e N-acetilgalactosamina (JIN e DEVRIES, 2006).

As glicoproteínas anticongelantes agem reduzindo o ponto de congelamento, sem afetar o ponto de fusão. Portanto, essas glicoproteínas evitam que os cristais de gelo se acumulem no sangue e em outros fluidos corporais (CULLINS *et al.*, 2011). Contudo, vale lembrar, que estudos ainda estão sendo realizados para melhor explicar o efeito destas macromoléculas.

Notothernia rossii apresenta rins aglomerulares, onde a urina é produzida pela secreção tubular e não pela filtração. Com isso, moléculas de baixo peso molecular, como AFGPs não são eliminadas. Tal fato pode ser associado com a conservação dessas moléculas, as quais possuem baixo peso molecular e são necessárias para a sobrevivência dos peixes em temperaturas tão baixas (EASTMAN, 1993; EASTMAN e DEVRIES, 1986 *apud* VERDE *et al.*, 2011). Sem contar que, uma redução da quantidade de íons e moléculas filtradas do plasma pelo glomérulo renal, significa que não há necessidade de haver gasto energético pelas células tubulares para reabsorver esses componentes a partir do filtrado. Caso essa molécula fosse filtrada, necessitaria ser degradada em aminoácidos pelos lisossomos dos túbulos renais; e, depois, ser resintetizada, havendo grande custo metabólico para o peixe (EASTMAN, 1993).

As reações bioquímicas em decorrência das baixas temperaturas ocorrem muito mais lentamente do que seriam em regiões temperadas. Contudo, sabe-se que as enzimas dos peixes antárticos são catalisadores mais eficientes do que os de peixes de águas temperadas (LIN *et al.* 1974 *apud* LAWS, 1984; SOMERO *et al.*, 1968; MACDONALD, 1987 *apud* CARDOSO, 2005; EVANS e SOMERO, 2010; SOMERO, 2010).

2.4 Sistema digestório

Os Teleostei apresentam inúmeras variações no que se refere à estrutura anatômica e ao comprimento dos órgãos do tubo digestório. Dessa forma, o amplo

espectro alimentar na dieta de peixes é previamente limitado pela forma do canal digestório, cujas estruturas podem refletir o hábito alimentar da espécie (FUGI & HAHN, 1991 *apud* MORAES, 1997; ALBRECHT *et al.*, 2001; SILVA *et al.*, 2008). São capazes de ingerir presas grandes que são fragmentadas em pedaços menores até entrarem no intestino (SILVA *et al.*, 2005; BORGES *et al.*, 2010). Contrastando-se com a forma do sistema digestório de peixes herbívoros, os quais apresentam o comprimento do intestino expressivamente maior, que o de peixes carnívoros. Enquanto o comprimento relativo do intestino dos onívoros pode variar, levando-se em consideração o tipo de alimento presente na dieta (AL-HUSSAINI, 1947 *apud* LIMA, 1997 e KAPOOR *et al.*, 1975).

A classificação da estrutura do trato gastrointestinal dos peixes é variável, utilizando-se comumente a proposta embriológica de Bertin (1958) (*apud* FREIBERGER, 1996; *apud* LIMA, 1997; *apud* VIANNA *et al.*, 2000), em que o intestino anterior compreende o esôfago e o estômago, sendo delimitado posteriormente pelo esfíncter pilórico; o intestino médio é o intestino propriamente dito, além dos cecos pilóricos, quando presentes; e, o intestino posterior ou reto é o segmento final do aparelho digestivo, que tem contato com o ânus.

A ausência de um estômago levou os estudiosos a formularem o critério histofisiológico para a divisão do trato digestório, além de diversas interpretações para a ausência do mesmo. Dessa forma, três segmentos mostram-se com funções e característica microscópicas bem evidentes: segmento proximal, em que são encontradas as células de gordura; segmento médio, onde há absorção de macromoléculas protéicas; e por fim, no segmento distal foi possível inferir a presença de células especializadas no transporte de íons havendo absorção de água e eletrólitos (BORGES *et al.*, 2010). Germano *et al.* (2008) relatam que a ausência de estômago é característica de espécies que ingerem alimentos com teor elevado de substâncias alcalinas, indigeríveis ou de fácil digestão, ou seja, tal situação é relacionada com o hábito alimentar. Entretanto, outros autores consideram que a ausência ou a presença do estômago verdadeiro não é influenciada pelo hábito alimentar, podendo estar relacionada filogeneticamente (KAPOOR *et al.*, 1975 *apud* GARGIULO *et al.*, 1997; NAGUIB *et al.*, 2011). Tal característica é encontrada nos peixes de água doce da família Cyprinidae, como na espécie *Labeo niloticus* (NAGUIB *et al.*, 2011).

O estômago é uma dilatação do tubo digestório, por isso, há especial interesse, já que quando repleto, ocupa grande parte da cavidade visceral, demonstrando o poder elástico do órgão (ALBRECHT, 2001; SANTOS *et al.*, 2007), e este é associado à variação de formato e altura das pregas existentes (RODRIGUES *et al.*, 2008). Além disso, há a retenção do alimento por períodos mais longos, permitindo o melhor funcionamento gástrico. A cavidade gástrica é capaz de acumular grande quantidade de presas, as quais são digeridas lentamente e provavelmente há o início da absorção de nutrientes (CACECI, 1991; FREIBERGER, 1996).

Quando presente, o estômago, também pode ser classificado anatomicamente em: contínuo, com o lúmen expandido; em sifonal (com forma de “U” ou “J”), também com o lúmen aumentado, podendo haver redução do trânsito alimentar a fim de maximizar o tempo de absorção de nutrientes de acordo com Silva *et al.* (2008); em cecal (com forma de “Y”), onde o fundo cego é direcionado para a porção posterior, sendo um local para a estocagem de alimentos (SMITH, 1978 *apud* BORGES *et al.*, 2010; WILSON e CASTRO, 2011).

O estômago de *Notothenia rossii* apresenta três regiões anatômica e histologicamente diferenciadas como em *Prochilodus lineatus* (MORAES, 1997), *Leporinus friderici* (ALBRECHT *et al.*, 2001), *Leporinus taeniofasciatus* (ALBRECHT *et al.*, 2000), *Pimelodus maculatus* (SANTOS *et al.*, 2007), *Micropogonias furnieri* (DÍAZ *et al.*, 2008), *Pelteobagrus fulvidraco* (CAO e WANG, 2009), *Claris batrachus* (RAJI e NOROUZI, 2010) denominadas de região cárdica, fúndica e pilórica (GOMES, 1981; KUCHINSKI, 1985). Já Díaz *et al.* (2003) afirmam que o estômago de *Engraulis anchoita* é formado por duas partes, sendo denominadas de regiões cranial e pilórica.

Como relatado anteriormente, tais regiões (cárdica, fúndica e pilórica) são diferenciadas histomorfologicamente, tendo em vista características como a quantidade de glândulas gástricas, número de fossetas gástricas e espessura da camada muscular. No trabalho desenvolvido por Bicca *et al.* (2006) notou-se um maior número de glândulas gástricas na região cárdica e fúndica, assim como nos estudos de Galvão *et al.* (1997), Albrecht *et al.* (2000), Silva *et al.* (2005), Díaz *et al.* (2008), Cao e Wang (2009), Raji e Norouzi (2010), Naguib *et al.* (2011) havendo um decaimento ou até mesmo a ausência das mesmas na região pilórica. Entretanto,

Arellano *et al.* (2001) afirmam que em *Solea senegalensis* são encontradas um grande número de glândulas gástricas na região fúndica e pilórica, mas a ausência das mesmas na região cárdica. Wilson e Castro (2011) afirmam que são poucos os peixes que possuem glândulas gástricas na região pilórica e citam exemplos como *Salmo*, *Esox*, *Anguilla* e *Perca*. A camada muscular da região pilórica chama bastante atenção visto que se apresenta consideravelmente mais espessa como em espécies já estudadas: *Epinephelus marginatus*, *Hoplias malabaricus*, *Micropogonias furnieri*, *Notothenia neglecta*, *Oreochromis niloticus*, *Pelteobagrus fulvidraco*, *Pimelodus maculatus*, *Prochilodus lineatus*, *Salminus brasiliensis*, *Schilbe mystus*, *Steindachnerina notonota*.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral:

Este trabalho visa caracterizar, histológica e histoquimicamente, a estrutura estomacal de *Notothenia rossii* submetidos a diferentes condições de estresse térmico.

3.2 Específicos:

- Caracterizar, através de microscopia de luz, a estrutura histológica do estômago do peixe antártico *Notothenia rossii* submetidos a diferentes temperaturas.
- Verificar e comparar as características histomorfométricas das regiões cárdica, fúndica e pilórica do estômago de *Notothenia rossii* sob condições de estresse térmico.
- Caracterizar possíveis alterações na secreção de mucossustâncias pelas células mucosas localizadas nas regiões cárdica, fúndica e pilórica do estômago de *Notothenia rossii* sob condições de estresse térmico.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta e aclimação

Exemplares de *Notothenia rossii* foram capturados com linha e anzol (Figura 6) na Baía do Almirantado entre as latitudes 61°S e 63°30'S e longitudes 53°55'W e 62°50'W, na Ilha Rei George, Arquipélago das Shetlands do Sul, Antártica durante março a novembro de 2009 e 2010, nos pontos de coleta Glaciar Ecology ou Punta Plaza (Figura 7). As coletas ocorreram com o auxílio de botes pneumáticos ou lancha oceanográfica Skua (Figuras 8 e 9), sendo os peixes provenientes de profundidades entre 10 a 20 metros. Os indivíduos foram acondicionados em caixas plásticas de 0,150 m³ havendo trocas manuais de água entre os locais de coleta na Baía do Almirantado (Glaciar Ecology ou Punta Plaza – Figura 7) até o Módulo de Aquário na Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF) onde foram aclimatados durante 3 dias em tanques de 1000 litros (n = 5 peixes/tanque) sob condições controladas de temperatura (0°C±1,5), salinidade (35psu ± 1,0) e aeração.



Figura 6. Exemplar de *N. rossii* coletada na Baía do Almirantado. Foto: Beatriz Bove da Costa Boucinhas, 2010.

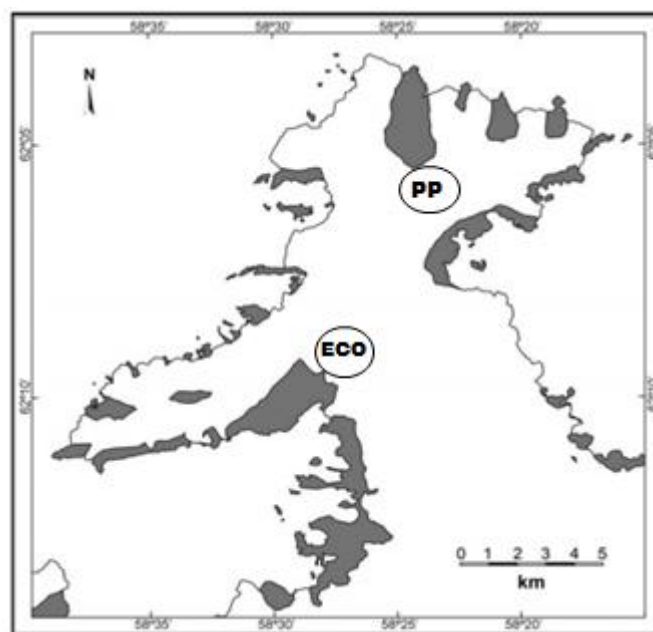


Figura 7. Mapa da Baía do Almirantado com os pontos de coleta: PP- Punta Plaza; ECO- Glaciar Ecology. Fonte: Adaptado de Simões *et al.*, 2004.



Figura 8. Bote pneumático utilizado para as coletas de *N. rossii*. Foto: Do autor, 2011.



Figura 9. Lancha oceanográfica SKUA usada para as saídas de campo.

4.2 Arranjo experimental

Os bioensaios ocorreram no Módulo de Aquários, uma sala climatizada contendo (Figura 10) tanques de 1000 litros, localizado na EACF. A água dos tanques era trocada, em 50%, a cada 48 horas, sendo proveniente de um sistema de captura da água do mar, localizado em frente à EACF. As condições abióticas foram as mesmas da aclimação, isto é, salinidade de $35\text{psu} \pm 1,0$ e aeração constante. A temperatura foi o fator ambiental que variou (0°C , 4°C e 8°C), sendo os animais mantidos em condições de zero graus, os animais-controle. Em dias alternados foi ofertado um pedaço de aproximadamente 2g de músculo de peixes antárticos como alimento. O fotoperíodo foi de 12h luz/12h escuro.



Figura 10. Módulo de Aquários - sala climatizada contendo os tanques de 1000 litros na Estação Comandante Ferraz (EACF). Foto: Do autor, 2011.

Os peixes foram submetidos a diferentes condições experimentais durante 24h, 96h, 15 dias e 30 dias, em temperaturas de 0°C, 4°C e 8°C e salinidade de 35psu \pm 1. Em cada tanque foram colocados 5 peixes, totalizando 10 peixes por experimento (Figura 11). Para esta monografia, foram analisados 5 animais por experimento.

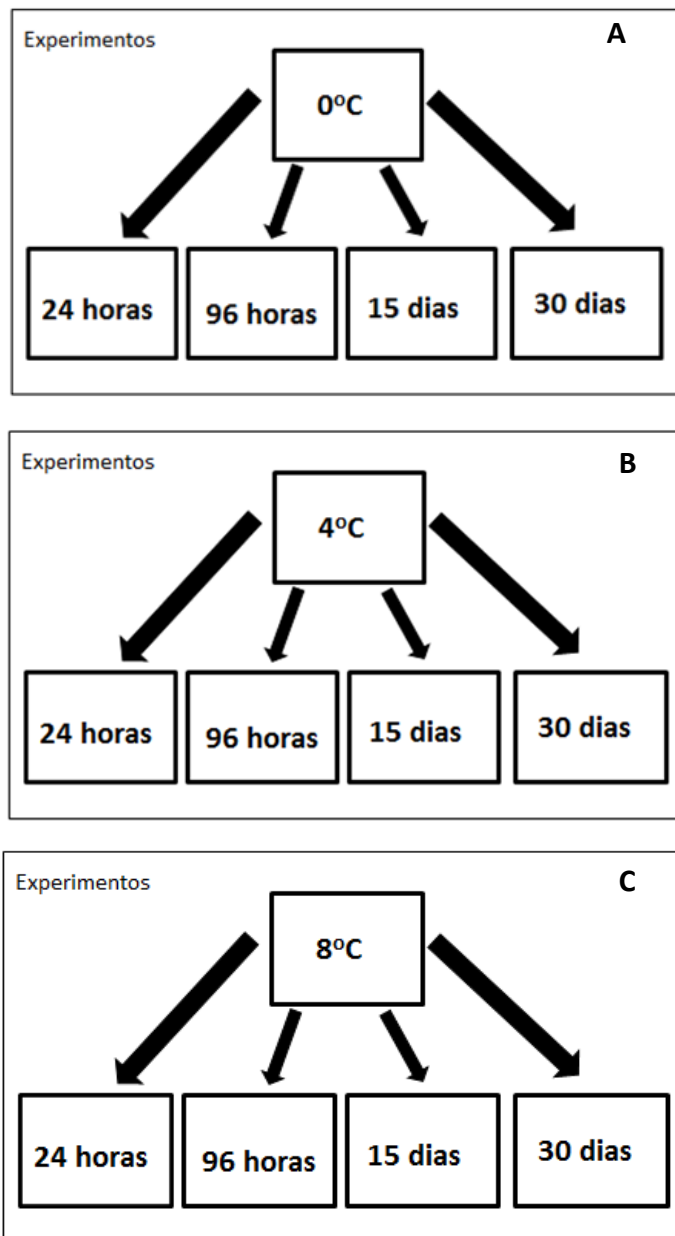


Figura 11. Esquema dos experimentos. **A.** Experimentos realizados a 0°C. **B.** a 4°C. e **C.** a 8°C.

Ao fim de cada experimento os indivíduos foram anestesiados com benzocaína 1%, sacrificados com secção medular, e imediatamente dissecados. Fragmentos das três regiões estomacais (cárdica, fúndica e pilórica) (Figuras 12 e 13) foram fixados por 24 horas em Bouin (solução aquosa de ácido pícrico saturada, formaldeído, ácido acético glacial) para análise histológica e histoquímica.



Figura 12. Fotografia de *Notothenia rossii* . Observar o estômago (indicado pela seta) localizado na cavidade abdominal. .Foto: Maria Rosa D. Pedreiro, 2011.

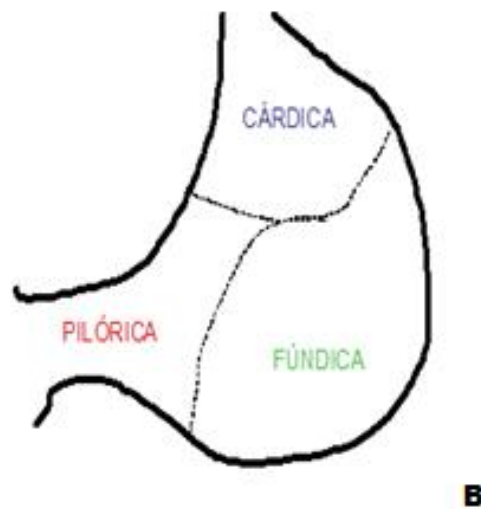


Figura 13. A. Fotografia do estômago de *Notothenia rossii*. Observar o estômago em formato de “J”. **B.** Desenho esquemático do estômago detalhando a divisão anatômica deste órgão. Foto: Maria Rosa D. Pedreiro, 2011.

4.3 Processamento histológico e histoquímico

O processamento histológico e histoquímico ocorreu no Laboratório de Biologia Adaptativa no Departamento de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná e pode ser sumarizado na Figura 14.

Posteriormente à fixação, o material permaneceu em álcool 70%, sofrendo várias lavagens neste álcool havendo a retirada dos cristais de ácido pícrico que permaneceram no tecido. As peças foram desidratadas em séries alcoólicas crescentes (álcool 80%, álcool 90%, álcool 100% I e álcool 100% II) por uma hora em cada álcool para a retirada de água do sistema; diafanizadas em Xileno P.A. I e Xileno P.A. II totalizando cerca de 30 minutos; impregnadas em Paraplast Plus®Sigma, por 1 hora e meia em estufa a 56°C; e, emblocadas também em Paraplast Plus®Sigma em temperatura ambiente. Com o auxílio do micrótomo RM2145/ Leica foram obtidos cortes de 5µm de espessura para a montagem de lâminas histológicas, as quais foram coradas com Hematoxilina e Eosina® para a descrição histológica ou submetidas a métodos histoquímicos para a demonstração de carboidratos.

O método histoquímico do ácido Periódico de Schiff (PAS) foi utilizado para a detecção de carboidratos neutros o qual envolve duas etapas. Primeiramente o polissacarídeo é submetido a uma oxidação pelo ácido periódico, onde há reação com as hidroxilas (-OH) produzindo radicais aldeídicos. Posteriormente, há a interação entre os radicais aldeídicos com o reativo de Schiff, formando um produto insolúvel, de coloração avermelhada (BANCROFT & STEVENS, 1996).

O Alcian Blue (AB) pH 2,5 e pH 1,0, para carboidratos ácidos carboxilados e sulfatados, e, carboidratos sulfatados, respectivamente foi utilizado. A coloração Alcian Blue é um grupo de corantes polivalentes básicos solúveis em água. A coloração azul do corante é proveniente do cobre presente na solução. O AB em solução de ácido acético a 3% cora tanto os carboidratos carboxilados quanto os sulfatados. Em solução de ácido clorídrico a 0,1N cora apenas as sulfatadas. Assim sendo, estas técnicas foram empregadas para permitir a identificação dos produtos gástricos liberados pelo epitélio mucossecretor.

Por fim, as lâminas coradas foram cobertas com lamínulas de vidro, sendo o meio de montagem utilizado o Permount®.

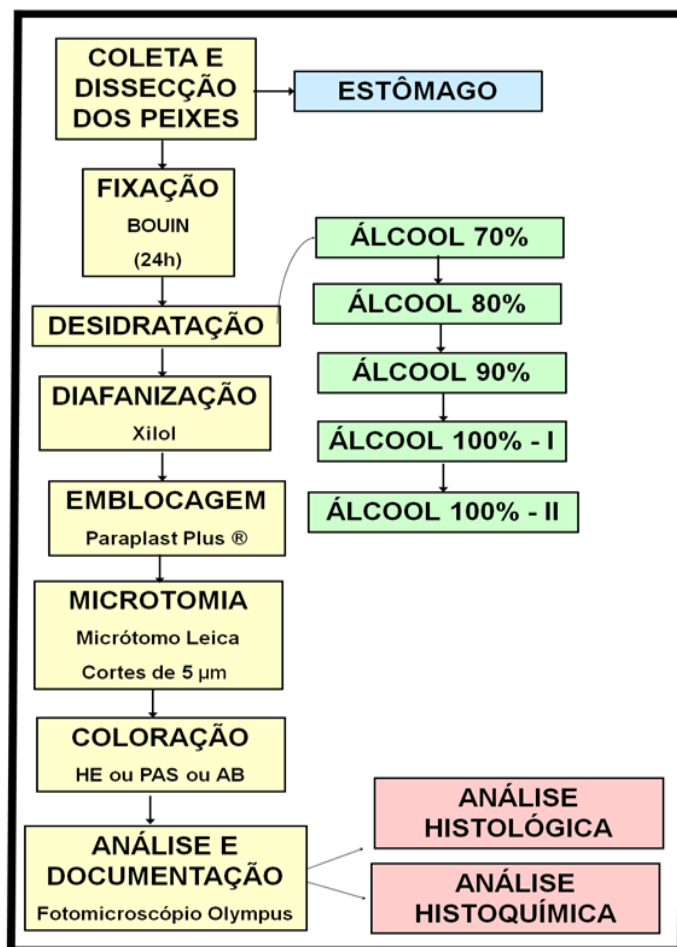


Figura 14. Fluxograma com os procedimentos para a microscopia óptica.

4.4 Análises morfométricas e histoquímicas

A observação e o registro fotográfico das lâminas foram realizados em microscópio óptico binocular Olympus BX40, com câmera de captura de imagem acoplada, disponibilizado pela Prof^a. Dr^a. Thelma Veiga Ludwig do Laboratório de Ficologia do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná. Para a determinação da espessura das túnicas gástricas e das dobras gástricas, para cada animal, foram capturadas três imagens com a objetiva de 4x totalizando uma área com resolução máxima de 4080 x 3072 pixels. Para a determinação da secreção das mucossustâncias, para cada animal, foram capturadas duas imagens com a objetiva de 20x totalizando uma área com resolução máxima de 4080 x 3072 pixels, além de imagens obtidas com as objetivas de aumento de 10 e 20x.

As imagens foram submetidas ao aplicativo Image Pro Plus 6.0, através do qual se pode mensurar a espessura das tûnicas mucosa, submucosa e muscular (os valores foram convertidos de pixels - escala gerada pelo aplicativo - para micrômetros). Para tanto, foram selecionadas três áreas para a obtenção da espessura média de cada uma das tûnicas analisadas, utilizadas então para a obtenção da média de cada grupo (Figura 15). Também foram medidas a altura (a partir da base das criptas até a extremidade livre) e a largura de aproximadamente 21 dobras gástricas por animal (Figura 16 e 17).

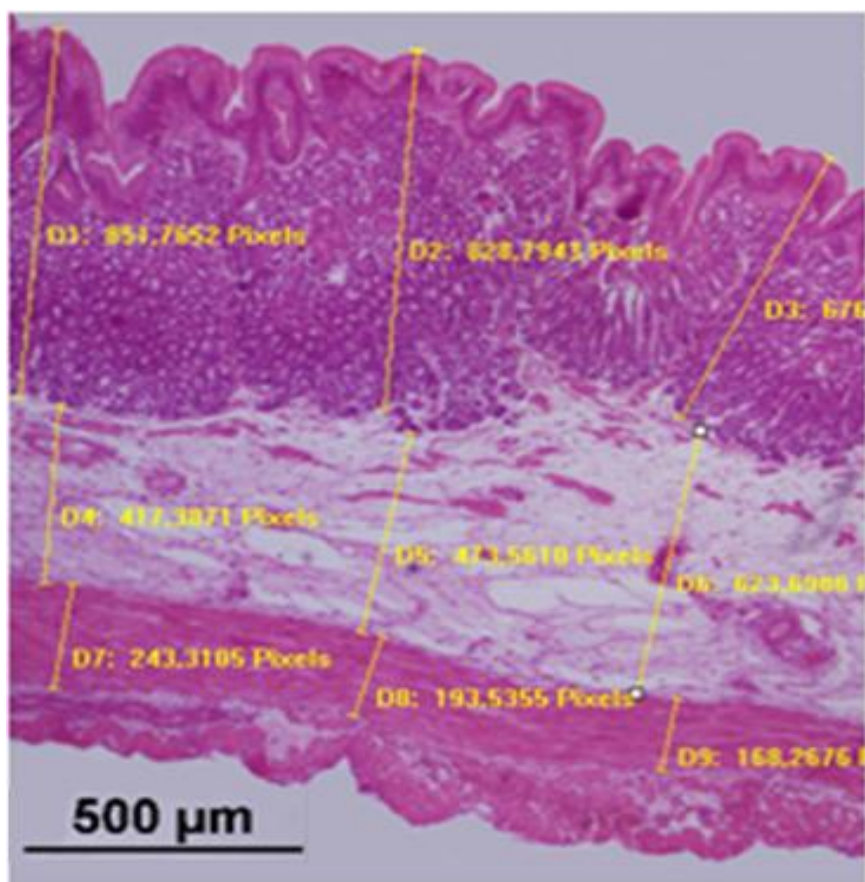


Figura 15. Exemplificação do método utilizado para a mensuração da espessura média de cada uma das três tûnicas analisadas utilizando o software Image Pro Plus.

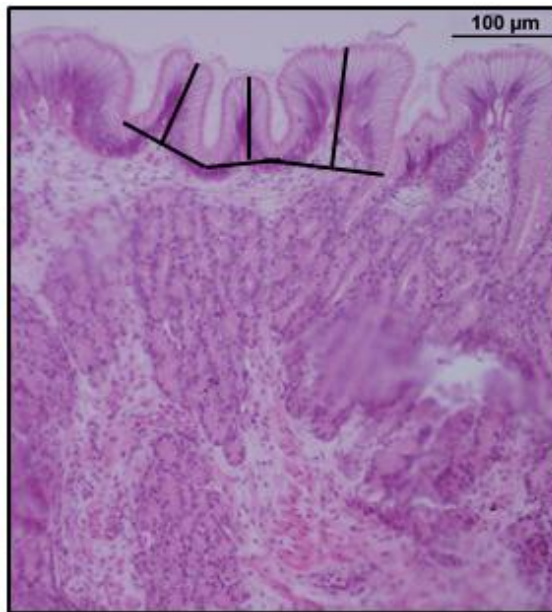


Figura 16. Exemplificação do método utilizado para a mensuração da altura de cada uma das dobras gástricas utilizando o software Image Pro Plus.

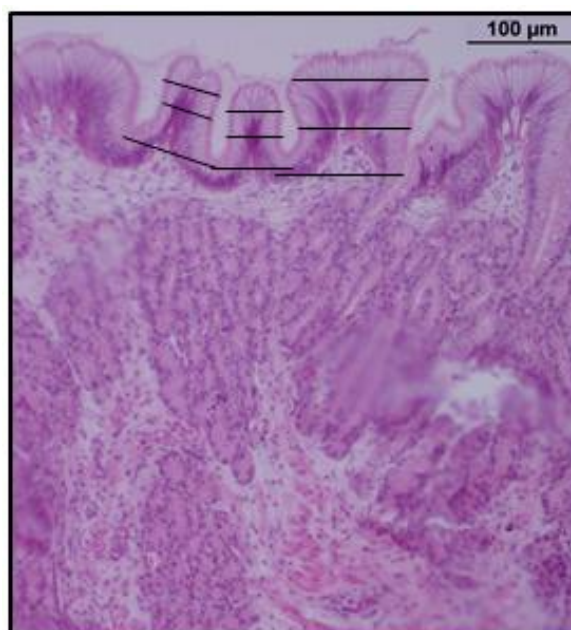


Figura 17. Exemplificação do método utilizado para a mensuração da largura média de cada uma das dobras gástricas utilizando o software Image Pro Plus.

Além disso, obteve-se a intensidade da reação dos grânulos de secreção de muco aos testes histoquímicos com auxílio de marcação digital (Figuras 18 e 19). Através dos sistemas de cor RGB, onde os pixels de uma imagem são vistos como pontos luminosos, sendo que as intensidades de cor são decompostas em vermelho (R), verde (G) e azul (B). Dessa forma cada pixel é verificado em um sistema tridimensional $R \times G \times B$, identificando-se os agrupamentos que se relacionam a tonalidades de cores da imagem (ALBANO, 2005; MIOT e BRIANEZI, 2010). Para

este trabalho, utilizou-se a análise de cluster (grupos semelhantes), ferramenta computacional que identifica esses agrupamentos e os substitui por valores medianos criando uma segmentação da imagem por intensidade de cor, o que pode ser observado na figura 19 (ALBANO, 2005; MIOT e BRIANEZI, 2010).

Os dados obtidos foram analisados com o software Prism 5.0. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para verificar se a diferença é decorrente da variação das temperaturas ou se é devida ao acaso. Seguido do pós-teste de Tukey para a comparação das médias. Vale ressaltar que esse teste é utilizado para a identificação de quais grupos, dentre os comparados tem diferenças significativas (ANJOS, 2008). O intervalo de confiança foi de 5%, sendo que qualquer valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

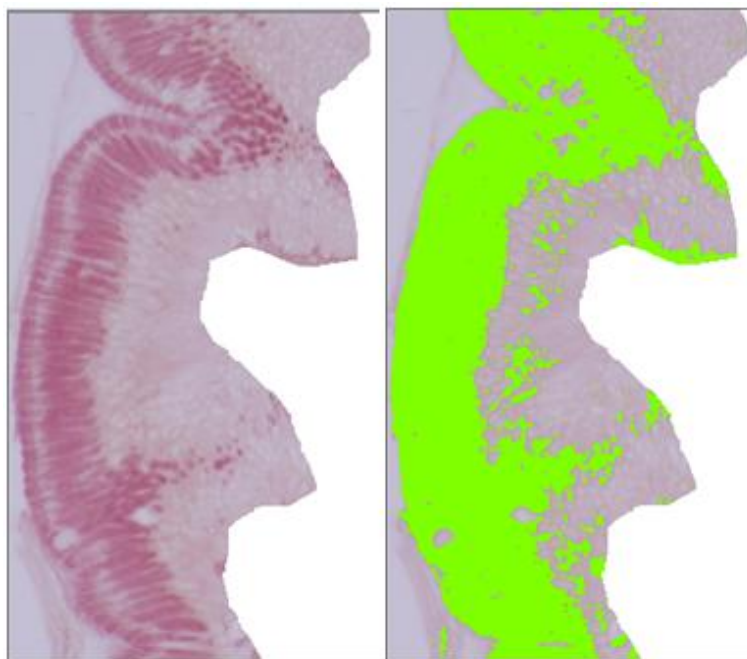


Figura 18. Método de avaliação da intensidade da coloração, onde através dos sistemas de cor RGB, os pixels da imagem são convertidos em dados numéricos pelo software Image Pro Plus.

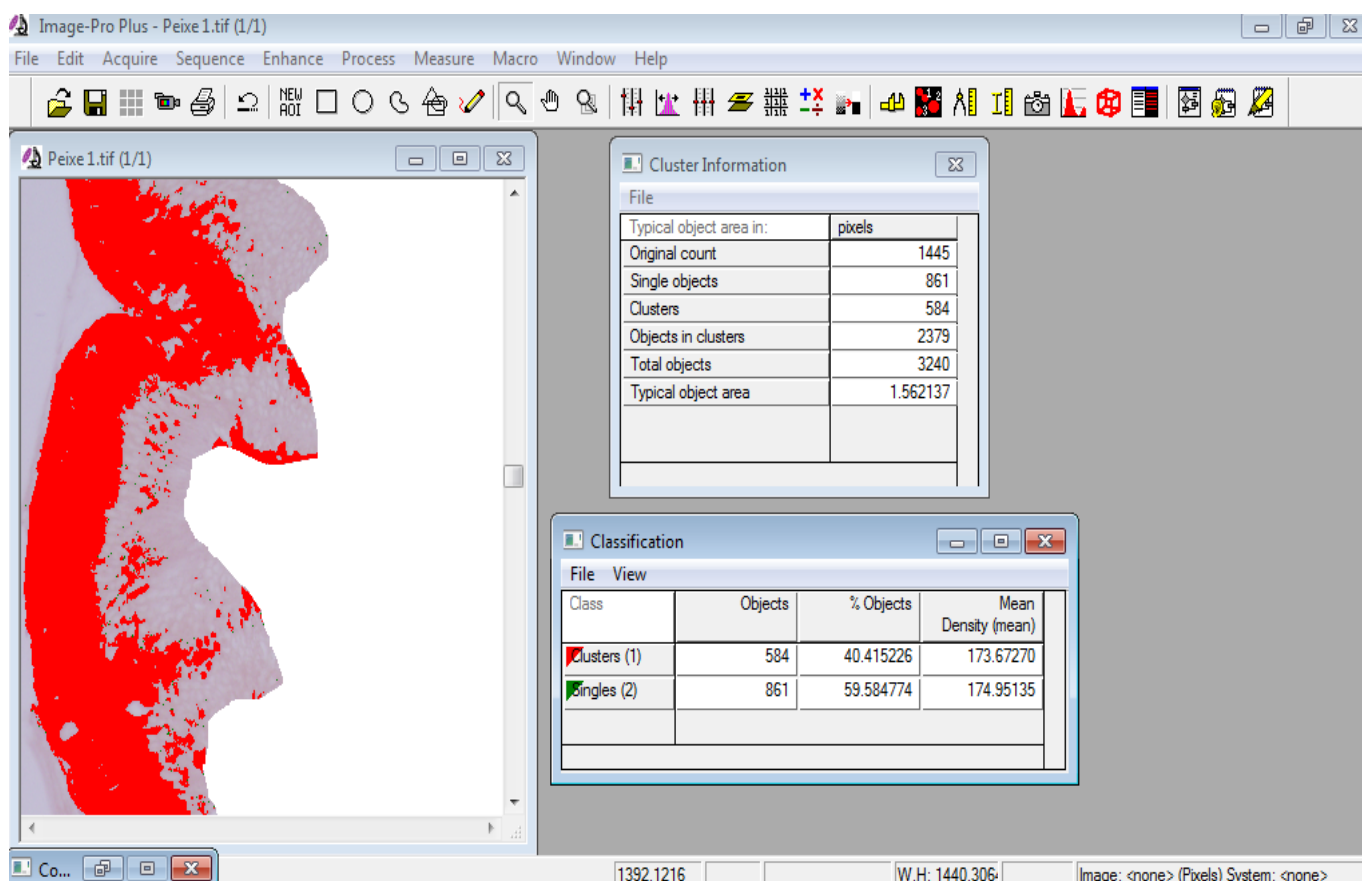


Figura 19. Método de avaliação da intensidade da coloração. As tonalidades semelhantes são agrupadas, e, assim valores numéricos os classificam, através do software Image Pro Plus.

5. RESULTADOS

5.1 Estrutura e resultados histomorfométricos do estômago padrão de *Notothenia rossii*

Notothenia rossii apresenta o estômago em forma de “J” (Figura 13), localizado ventralmente na cavidade abdominal, entre o fígado e o pâncreas. Anatomicamente é dividido em região anterior (cárdica), no limite com o esôfago; região mediana (fúndica) e região posterior (pilórica), em contato com o intestino. No revestimento interno do estômago há pregas espessas, longitudinais e com superfície rugosa.

Em análise histológica, a parede do estômago é formada por quatro túnicas distintas: mucosa (em contato com a luz do órgão), seguida pela submucosa, muscular e serosa (Figura 20). As quais podem variar de espessura nas diferentes regiões do estômago.

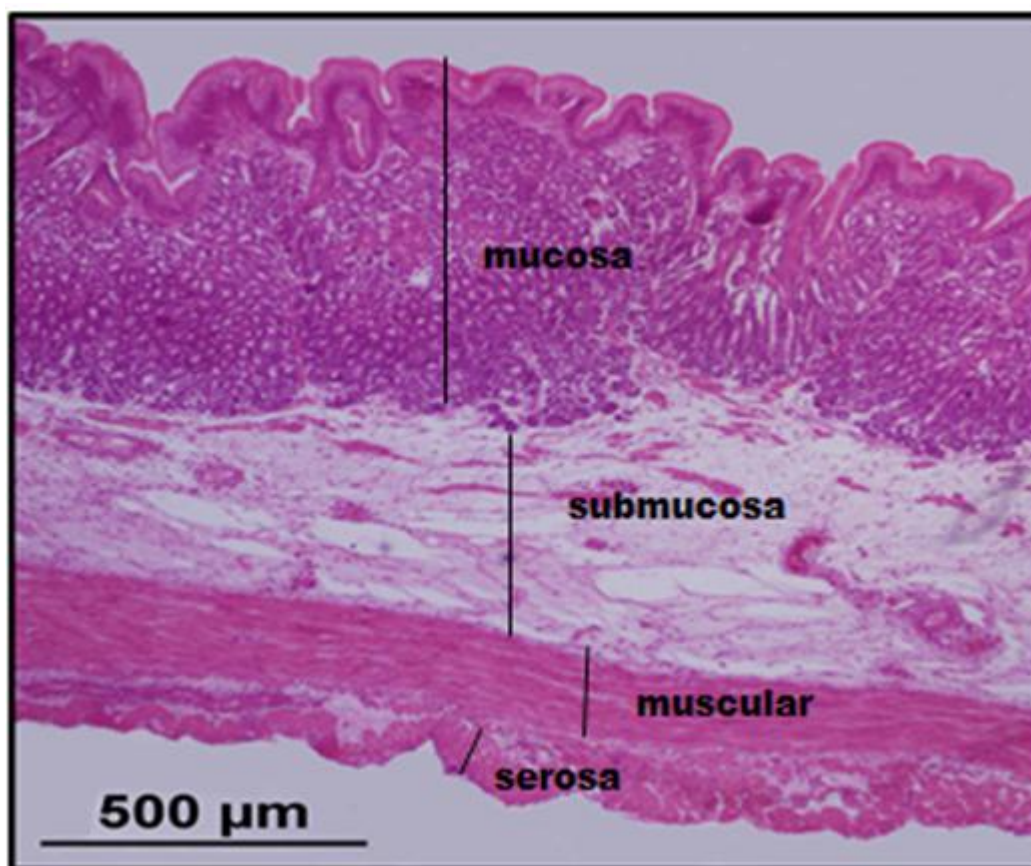


Figura 20. Microscopia de luz das quatro túnicas histológicas da parede estomacal de *Notothenia rossii*. Coloração HE. Aumento de 48x.

A túnica mucosa é formada por três subcamadas: epitélio de revestimento, lâmina própria e muscular da mucosa.

O epitélio de revestimento (Figura 21) é simples e constituído por células cilíndricas, com núcleos basais, que são encontradas em toda a extensão do órgão, sofrendo algumas invaginações ao longo das dobras, formando as fossetas (criptas) gástricas que variam em número, tamanho e profundidade de acordo com a região considerada. Conforme já descrito, estas células possuem a função mucossecretora, mostrando-se reativas aos testes histoquímicos de Ácido Periódico de Schiff (PAS) e Alcian Blue pH 2,5 realizados para a detecção de glicosaminoglicanos neutros e ácidos (carboxilados e sulfatados), respectivamente.

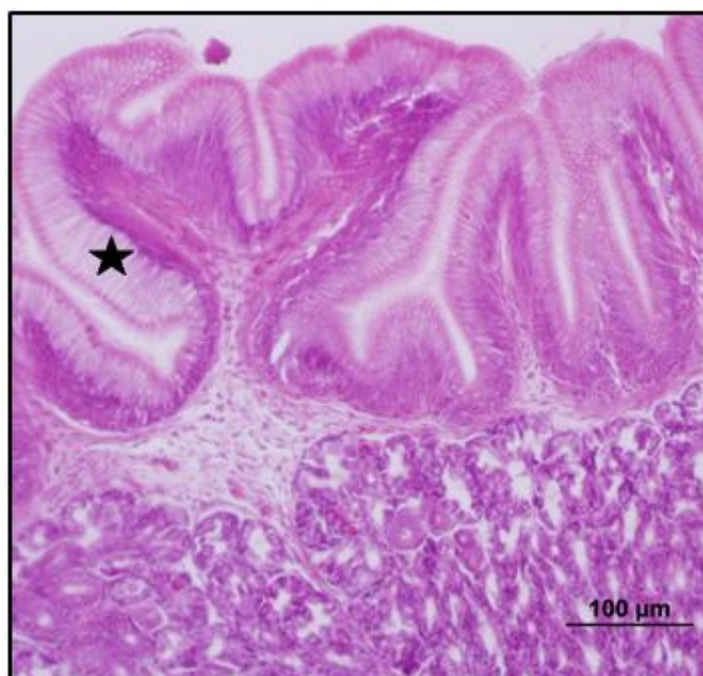


Figura 21. Microscopia de luz do epitélio de revestimento (★) encontrado na túnica mucosa do estômago de *Notothenia rossii*. Coloração HE. Aumento de 240x.

A lâmina própria (Figura 22) da túnica mucosa, observada logo abaixo do epitélio de revestimento, é formada por tecido conjuntivo frouxo e glândulas gástricas (Figura 23). As glândulas gástricas estão presentes na camada mucosa somente nas regiões cárdica e fúndica do estômago, diminuindo consideravelmente em quantidade na região pilórica. Além disso, as glândulas gástricas são utilizadas para delimitar a lâmina própria. Estas glândulas podem ser classificadas como tubulares constituídas por células cúbicas, formando um ducto tubular único, onde os produtos de secreção são liberados.

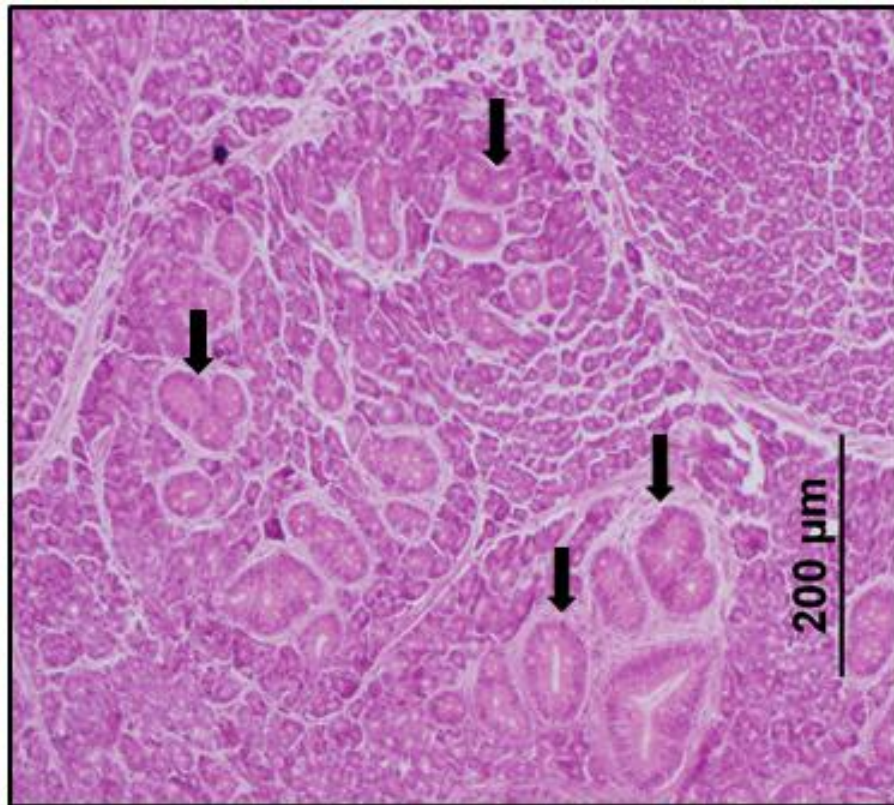


Figura 22. Microscopia de luz da lâmina própria e as glândulas gástricas (↓) do estômago de *Notothenia rossii*. Coloração HE. Aumento de 240x.

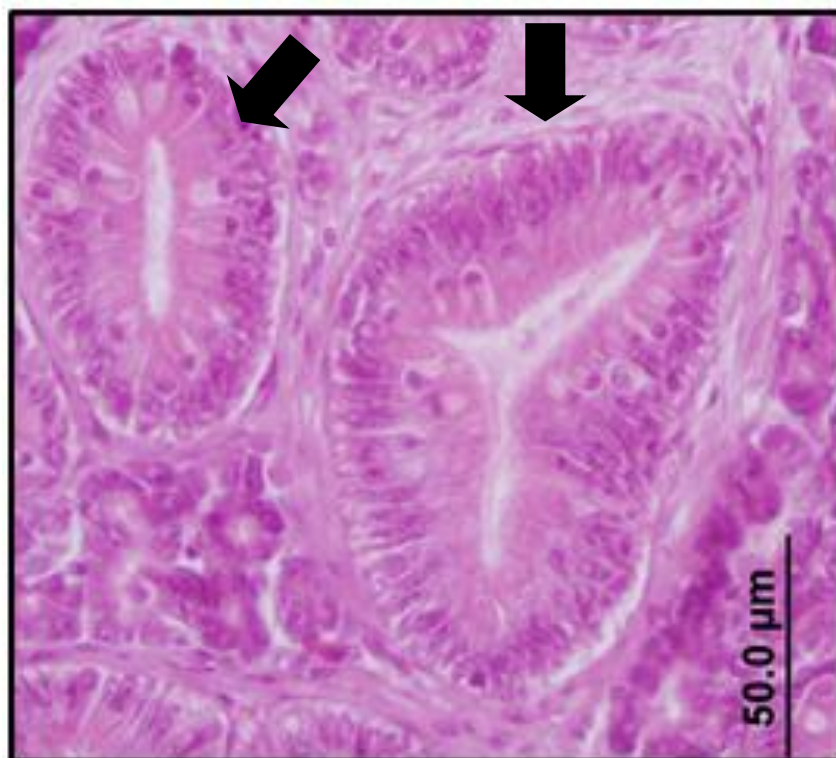


Figura 23. Microscopia de luz detalhando as glândulas gástricas (↓) do estômago de *Notothenia rossii*. Coloração HE. Aumento de 480x.

A muscular da mucosa (Figura 24) é formada por fibras musculares lisas próximas às glândulas; apresentando-se de forma irregular, muito fina e de difícil demonstração; marca o final da camada mucosa. É mais espessa e evidente na região pilórica.

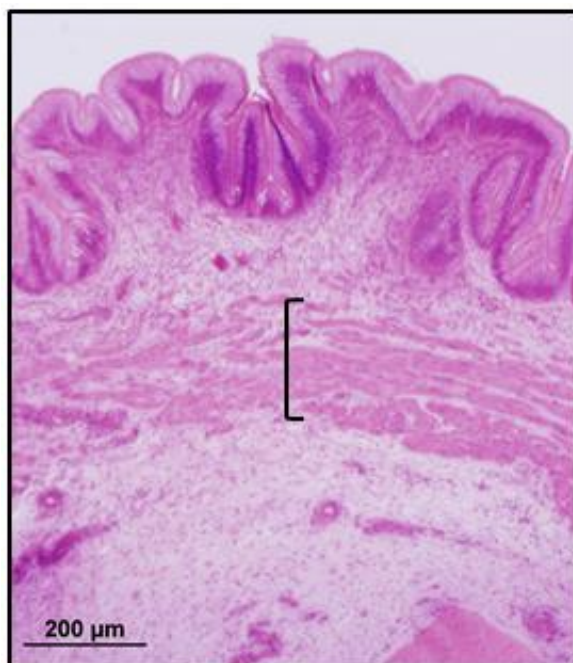


Figura 24. Microscopia de luz da subcamada muscular ([]) da camada mucosa da região pilórica do estômago de *Notothenia rossii*. Coloração HE. Aumento de 120x.

Em animais controle a túnica mucosa apresenta-se homogênea nas regiões cárdica, fúndica e pilórica. Como se pode observar, por exemplo, nos animais mantidos por 96 horas, houve variação de $666,57 \pm 42,29 \mu\text{m}$ na região pilórica a $887,89 \pm 94,85 \mu\text{m}$ de espessura na região fúndica (Figura 25 e tabela 1).

Tabela 1. Média das espessuras da túnica mucosa encontradas nos experimentos realizados a 0°C nas regiões cárdica, fúndica e pilórica em 24 horas, 96 horas, 15 dias e 30 dias.

Espessura média da túnica mucosa (μm)	Região Cárdica	Região Fúndica	Região Pilórica	A
24 horas	$832,07 \pm 59,38$	$993,30 \pm 114$	$770,17 \pm 53,44$	
96 horas	$739,58 \pm 64,86$	$887,89 \pm 94,85$	$666,57 \pm 42,29$	
15 dias	$886,20 \pm 57,27$	$841,8 \pm 56,74$	$682,21 \pm 12,15$	
30 dias	$852,54 \pm 54,76$	$817,35 \pm 35,21$	$682,90 \pm 96,53$	

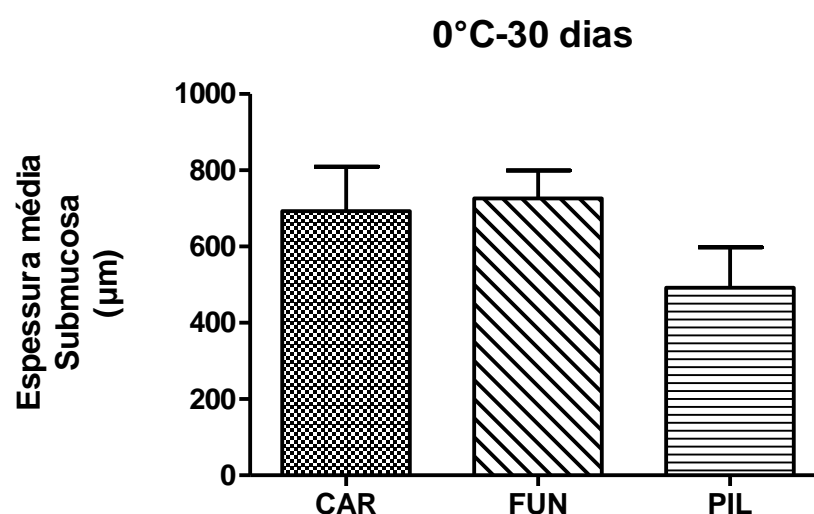


Figura 26. Espessura média da túnica submucosa de *Notothenia rossii* controle mantidas a temperatura de 0°C durante 30 dias. Observar que esta região apresenta-se estatisticamente homogênea nas três regiões estomacais. $P < 0,05$. CAR = região cárdica; FUN = região fúndica e PIL = região pilórica.

A túnica muscular é formada por músculo liso sendo os feixes dispostos de forma circular internamente e longitudinal externamente. Na região pilórica a túnica muscular de animais mantidos a 0°C por 24 horas é bastante espessa apresentando uma média de $1413,76 \pm 230,3 \mu\text{m}$ (Tabela 3 e Figura 27 A). E uma média $1887,79 \mu\text{m}$ em animais mantidos 15 dias a 0°C, enquanto essa mesma porção na região cárdica e fúndica encontram-se 58,65% e 66,71% mais delgadas, respectivamente (Figura 27 B e Tabela 3).

Tabela 3. Média das espessuras da túnica muscular encontradas nos experimentos realizados a 0°C nas regiões cárdica, fúndica e pilórica em 24 horas, 96 horas, 15 dias e 30 dias.

Espessura média da túnica muscular (μm)	Região Cárdica	Região Fúndica	Região Pilórica	C
24 horas	$607,87 \pm 78,78$	$503,67 \pm 15,26$	$1413,76 \pm 230,3$	
96 horas	$596,52 \pm 78,95$	$468,79 \pm 81,93$	$778,92 \pm 91,53$	
15 dias	$780,67 \pm 29,78$	$655,3 \pm 34,62$	$1887,79 \pm 251,1$	
30 dias	$642,06 \pm 156,1$	$620,85 \pm 117,7$	$979,61 \pm 224,4$	

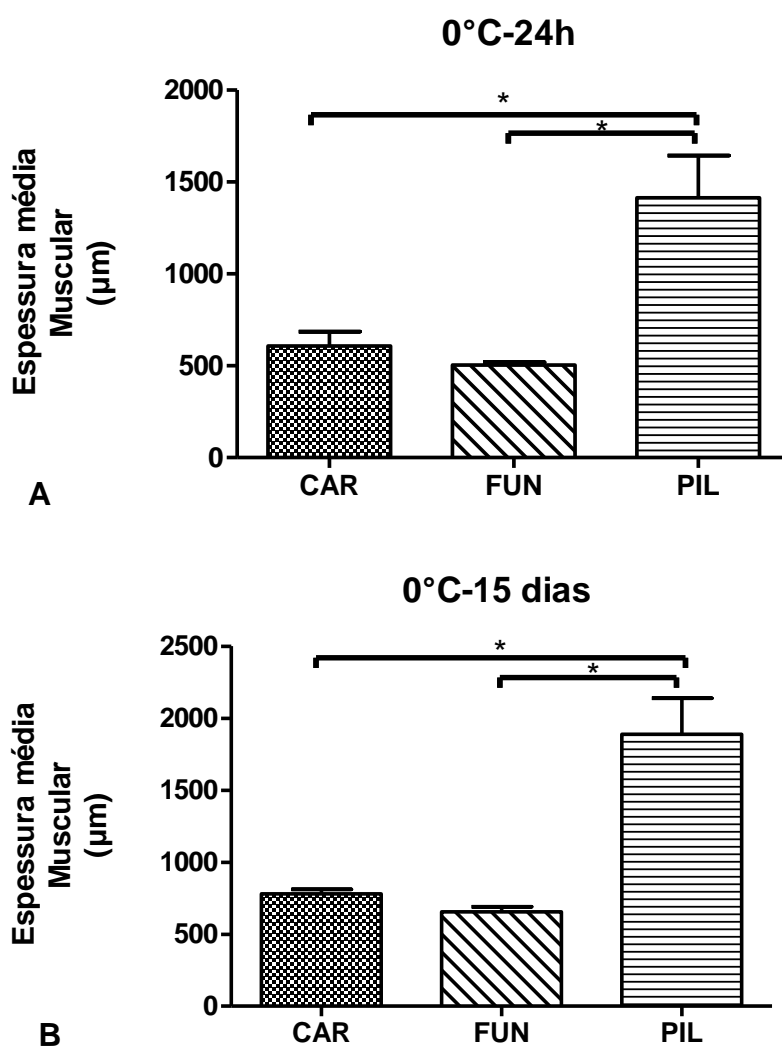


Figura 27. Espeçura média da túnica muscular das três regiões estomacais de *Notothenia rossii* mantidas durante 24 horas (A) e 15 dias (B) em 0°C. Observar a diferença significativa (*) entre as regiões cárdica (CAR) e pilórica (PIL), assim como entre a região fúndica (FUN) e pilórica. $p < 0,05$.

Por fim, a túnica serosa é delgada, constituída por epitélio pavimentoso simples, apoiada sobre o tecido conjuntivo revestido por mesotélio.

5.2 Resultados histomorfométricos do estômago de *Notothenia rossii* submetido ao estresse térmico

Nos experimentos realizados, a espeçura da túnica mucosa localizada nas diferentes regiões do estômago (cárdica, fúndica e pilórica) sofreu alteração. Verificamos que há diferença significativa, na espeçura da túnica mucosa localizada na região cárdica do estômago, entre animais controles e experimentais,

mantidos durante 96 horas a 8°C (Figura 28). Também foi observada variação significativa, nesta mesma túnica e região, entre animais mantidos durante 30 dias a 4°C e 8°C (Figura 28). Na região fúndica não se observou variação significativa entre os grupos (Figura 29). Na região pilórica, a túnica mucosa apresentou variação significativa entre os grupos experimentais (4°C e 8°C) mantidos durante 96 horas (Figura 30).

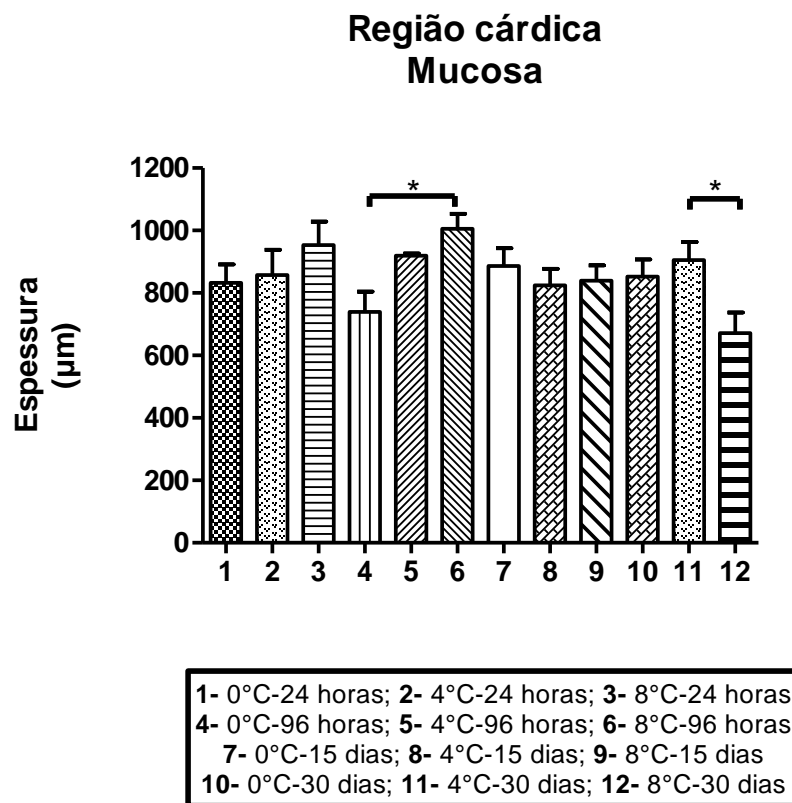


Figura 28. Espessura média da túnica mucosa da região cárdica de *Notothenia rossii* nos grupos analisados. Observar a diferença significativa (*) entre os indivíduos dos grupos 4 e 6, bem como entre os grupos 11 e 12. $p < 0,05$.

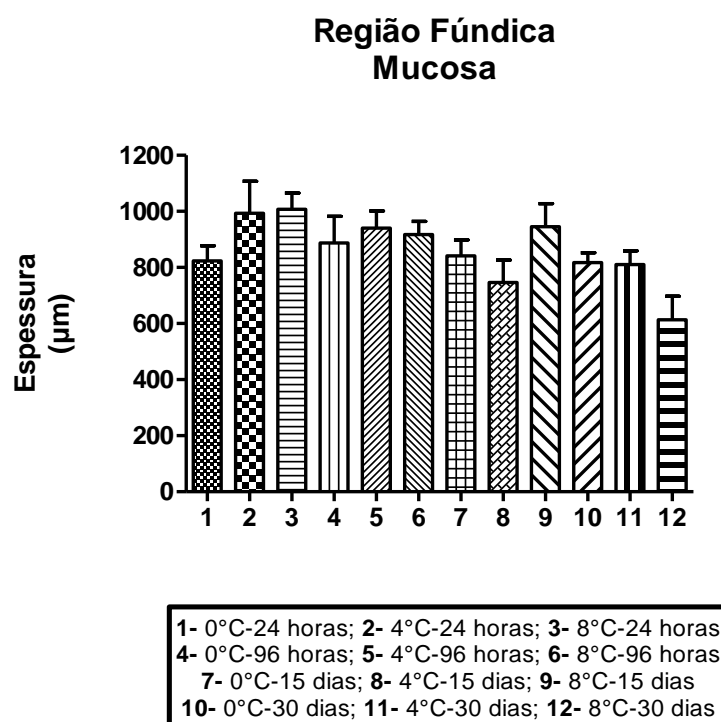


Figura 29. Espessura média da túnica mucosa da região fúndica de *Notothernia rossii* nos grupos analisados. Observar que não houve variação significativa entre os grupos analisados.

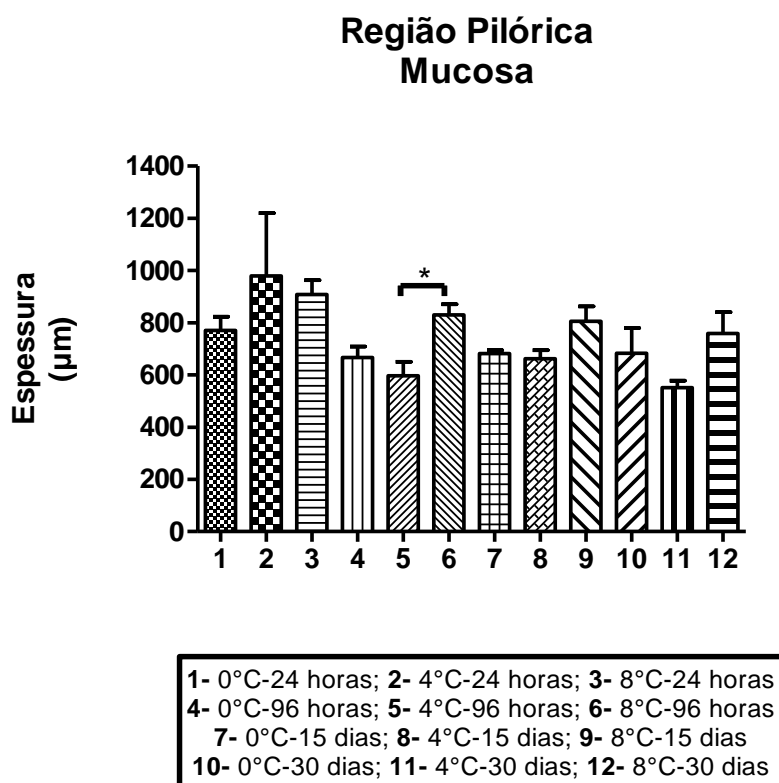


Figura 30. Espessura média da túnica mucosa da região pilórica de *Notothernia rossii* nos grupos analisados. Observar a diferença significativa (*) entre os indivíduos dos grupos 5 e 6. $p < 0,05$.

Através das análises histomorfométricas da espessura da túnica submucosa das regiões cárdica, fúndica e pilórica, de animais submetidos ao estresse térmico, não se observou variação significativa entre os grupos analisados (0°C, 4°C e 8°C) (Figuras 31, 32 e 33).

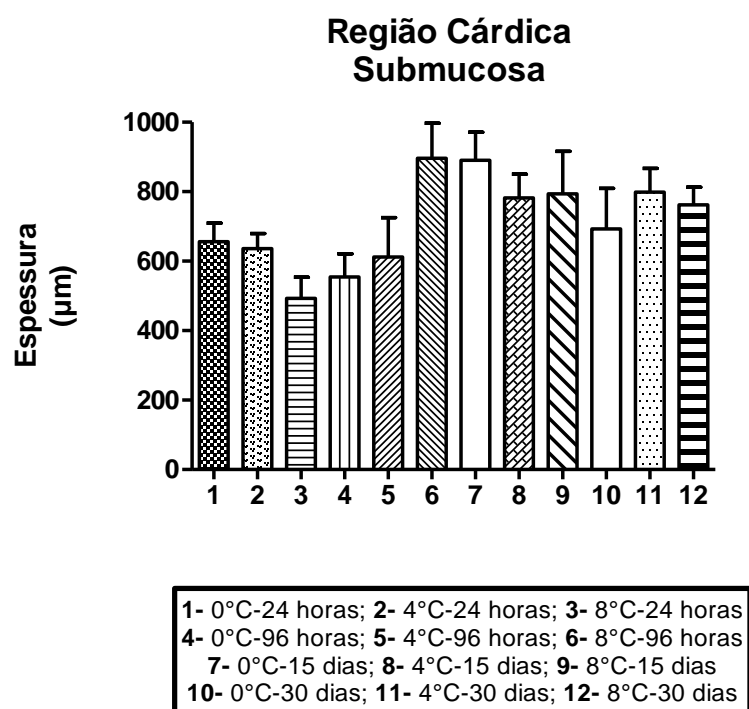


Figura 31. Espessura média da túnica submucosa da região cárdica de *Notothenia rossii* nos grupos analisados. Notar que não houve variação estatisticamente expressiva quando elevada a temperatura.

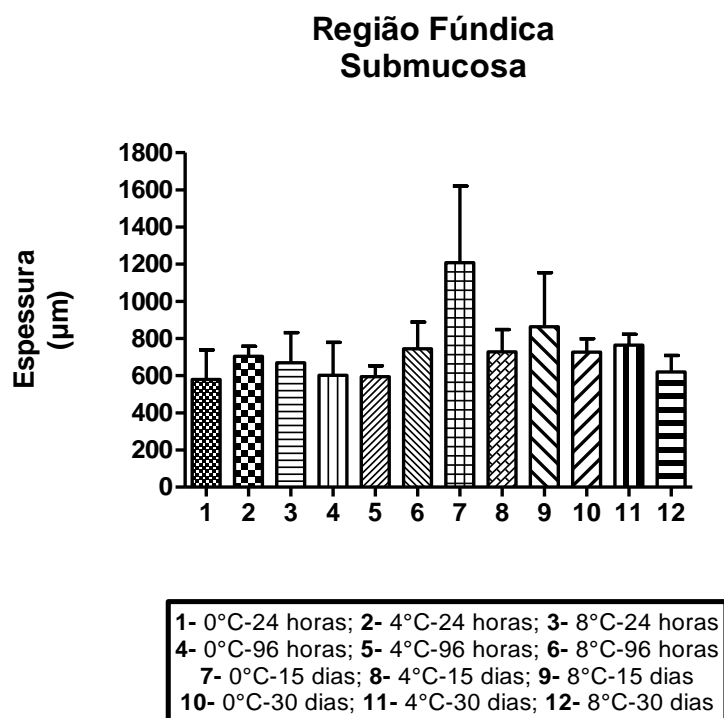


Figura 32. Espessura média da túnica submucosa da região fúndica de *Notothenia rossii* nos grupos analisados. Notar que não houve variação estatisticamente expressiva quando elevada a temperatura.

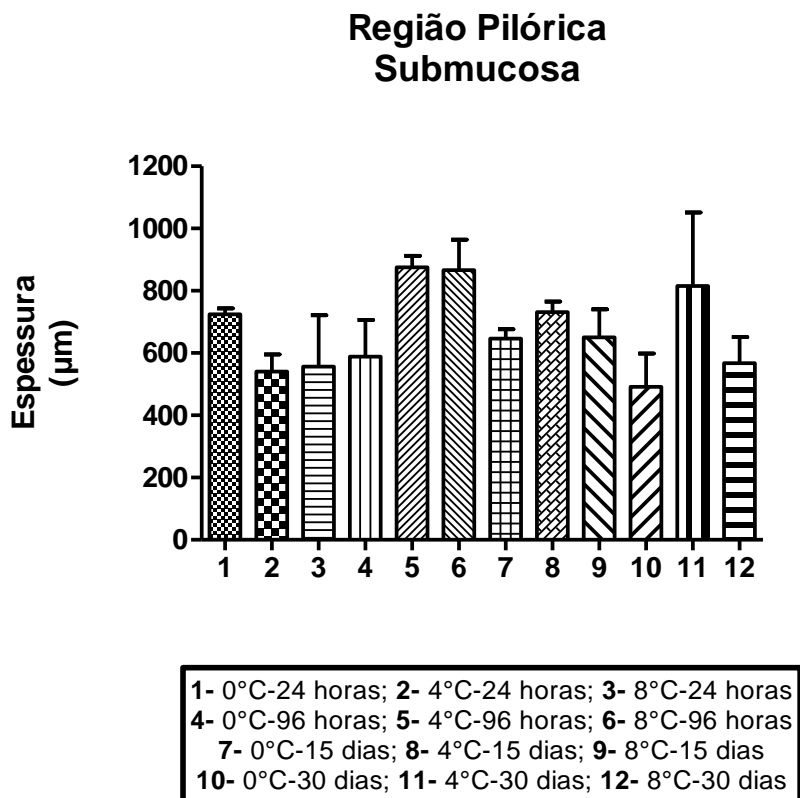


Figura 33. Espessura média da túnica submucosa da região pilórica de *Notothenia rossii* nos grupos analisados. Notar que não houve variação estatisticamente expressiva quando elevada a temperatura.

A espessura da túnica muscular da região cárdica não apresentou variação significativa entre os grupos (Figura 34). Na região fúndica, a túnica muscular, sofreu variação significativa entre animais controles e experimentais, mantidos durante 24 horas a 8°C (Figura 35). Já, na região pilórica, a variação da espessura da túnica muscular foi significativa entre animais controles e experimentais, mantidos durante 96 horas a 4°C (Figura 36).

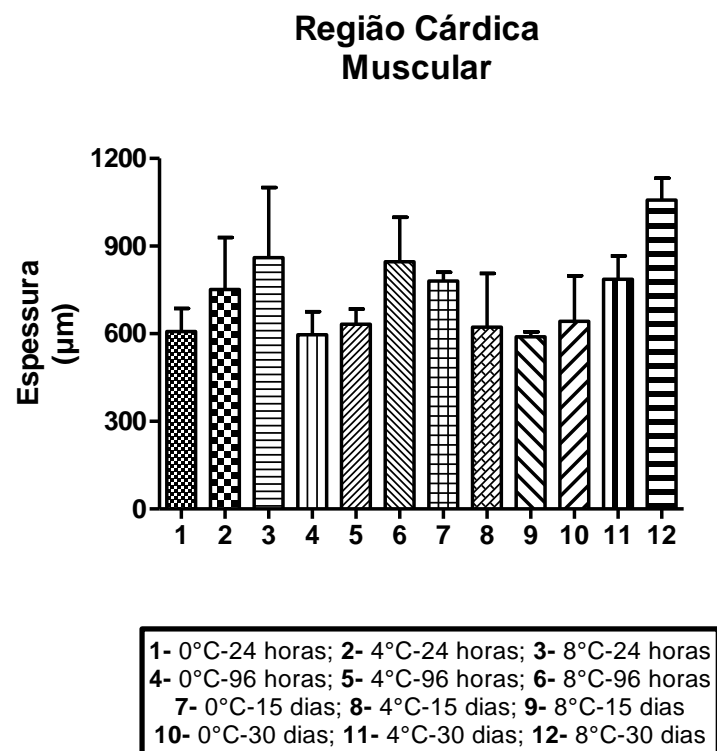


Figura 34. Espessura média da túnica muscular da região cárdica de *Notothenia rossii* nos grupos analisados. Notar que não houve variação estatisticamente expressiva quando elevada a temperatura.

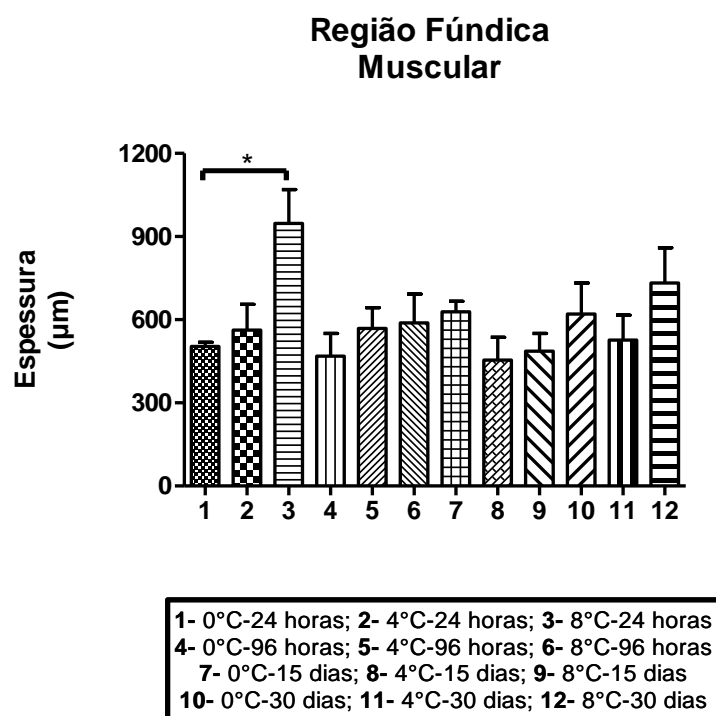


Figura 35. Espessura média da túnica muscular da região fúndica de *Notothenia rossii* nos grupos analisados. Houve variação estatisticamente marcante nos grupos 1 e 3.

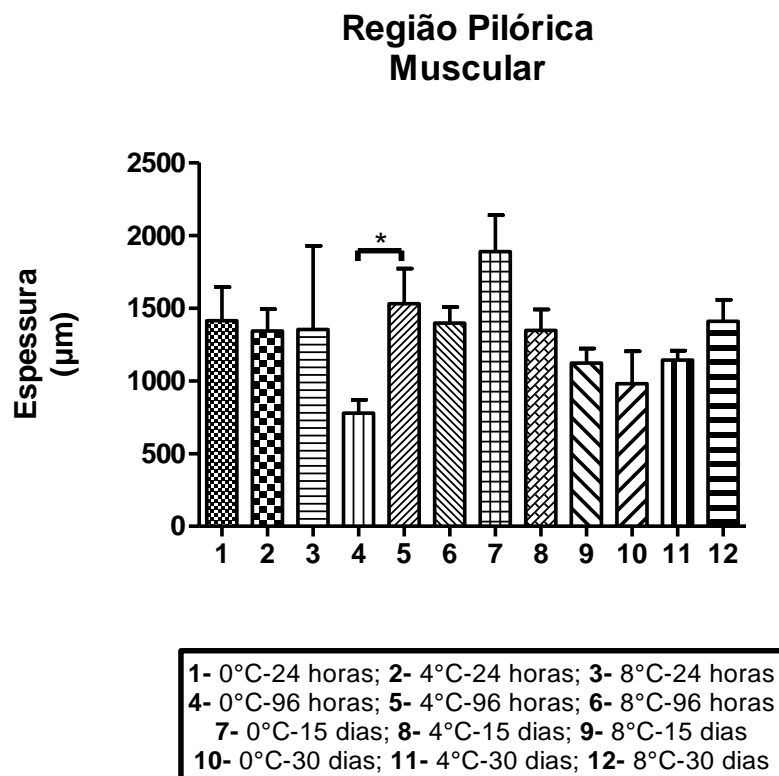


Figura 36. Espessura média da túnica muscular da região pilórica de *Notothenia rossii* nos grupos analisados. Houve variação estatisticamente marcante apenas nos grupos 4 e 5.

5.2.1 Altura das dobras gástricas

Na tabela 4 temos as alturas médias das dobras gástricas, em micrômetros (μm), das regiões cárdica, fúndica e pilórica de animais controles (0°C) e experimentais (4°C e 8°C) mantidos durante 24 horas, 96 horas, 15 dias e 30 dias nas diferentes temperaturas.

Tabelas 4. Média da altura das dobras gástricas encontradas nos experimentos realizados nas regiões cárdica (A), fúndica (B) e pilórica (C).

Altura média das dobras gástricas (μm) – Região cárdica	0 °C	4 °C	8 °C
24 horas	193,19 \pm 15,42	160,85 \pm 23,28	125,68 \pm 17,49
96 horas	187,17 \pm 33,22	124,12 \pm 5,87	151,98 \pm 6,62
15 dias	173,04 \pm 24,14	113,66 \pm 7,61	124,56 \pm 5,24
30 dias	154,37 \pm 8,67	145,51 \pm 12,57	124,73 \pm 6,49

Altura média das dobras gástricas (μm) – Região Fúndica	0 °C	4 °C	8 °C B
24 horas	159,91 \pm 21,07	124,03 \pm 4,91	121,07 \pm 8,24
96 horas	173,36 \pm 10,29	139,08 \pm 7,81	126,68 \pm 7,42
15 dias	134,82 \pm 15,60	123,28 \pm 10,72	132,94 \pm 14,63
30 dias	167,44 \pm 10,29	164,4 \pm 18,20	133,13 \pm 9,25

Altura média das dobras gástricas (μm) – Região Pilórica	0 °C	4 °C	8 °C C
24 horas	215,83 \pm 4,64	159,00 \pm 32,52	115,74 \pm 6,36
96 horas	231,62 \pm 43,75	194,54 \pm 24,47	131,72 \pm 13,46
15 dias	238,48 \pm 48,24	178,54 \pm 23,50	146,26 \pm 15,56
30 dias	178,31 \pm 25,40	146,75 \pm 8,63	130,13 \pm 5,84

As dobras gástricas da região cárdica dos animais analisados apresentaram diferenças estatísticas significativas apenas entre animais controle e experimentais, mantidos durante 15 dias (Figura 37 e Tabela 1).

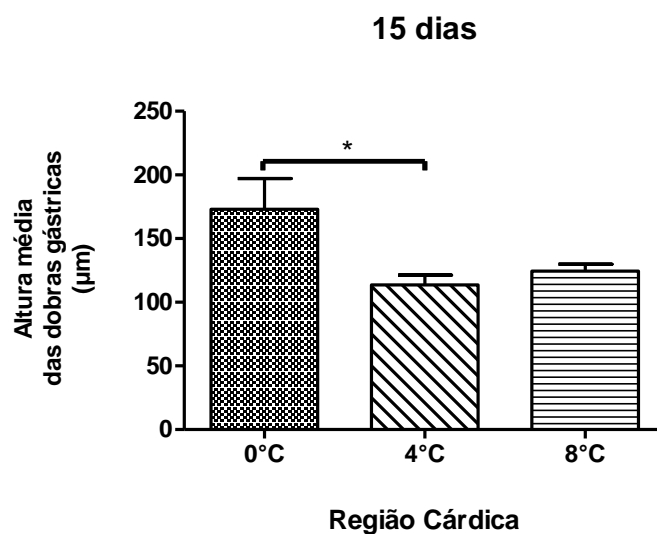


Figura 37. Altura média das dobras gástricas da região cárdica de *Notothenia rossii* mantidas nas três variáveis de temperatura durante 15 dias. Observar a redução estatisticamente significativa do grupo submetido a 4°C.

Já na região fúndica, observou-se que com a elevação da temperatura houve um achatamento, isto é, uma diminuição da altura, das dobras gástricas. Animais mantidos durante 96 horas a 4°C e 8°C apresentam efeito significativo para a altura das dobras gástricas quando comparados com os indivíduos submetidos a 0°C (Figura 38 e Tabela 1).

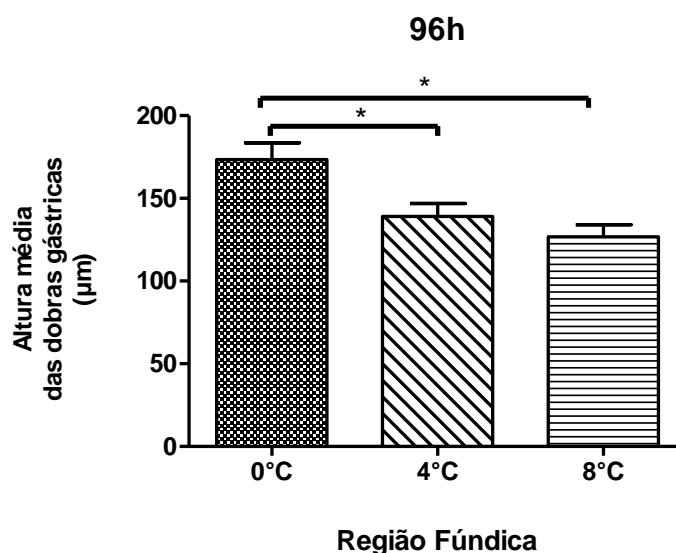


Figura 38. Altura média das dobras gástricas da região fúndica de *Notothenia rossii* mantidas nas três variáveis de temperatura durante 96 horas. Observar a redução estatisticamente significativa dos grupos submetidos a 4°C e a 8°C quando comparados com o de 0°C.

Avaliando a altura das dobras gástrica na região pilórica, constatou-se o efeito significativo entre indivíduos mantidos durante 24 horas a 0°C e 8°C (Figura 39). Os valores médios de cada grupo, nessa região, demonstram a correlação inversa entre a temperatura e a altura da prega gástrica.

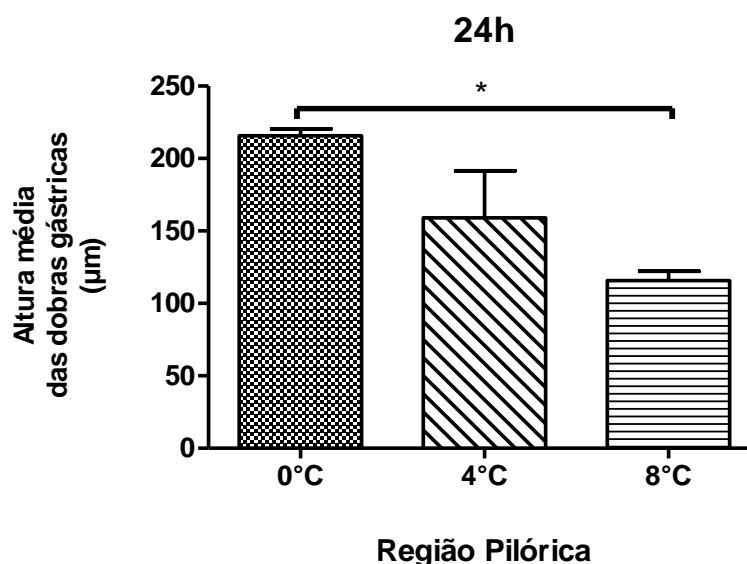


Gráfico 39. Altura média das dobras gástricas da região pilórica de *Notothenia rossii* mantidas nas três variáveis de temperatura durante 24 horas. Observar a redução estatisticamente significativa do grupo submetido a 8°C quando comparado com o de 0°C.

5.2.2 Largura das dobras gástricas

Na tabela 5 temos as larguras médias das dobras gástricas, em micrômetros (µm), das regiões cárdica, fúndica e pilórica de animais controles (0°C) e experimentais (4°C e 8°C) mantidos durante 24 horas, 96 horas, 15 dias e 30 dias nas diferentes temperaturas.

Tabelas 5. Média da largura das dobras gástricas encontradas nos experimentos realizados nas regiões cárdica (A), fúndica (B) e pilórica (C).

Largura média das dobras gástricas (µm) – Região cárdica	0 °C	4 °C	8 °C	A
24 horas	124,30±5,50	144,84±6,94	137,98±11,77	
96 horas	171,15±17,03	148,15±12,28	131,32±8,60	
15 dias	225,8±37,16	137,09±18,66	89,80±6,29	
30 dias	195,23±13,44	149,28±11,13	133,41±9,03	

Largura média das dobras gástricas (µm) – Região Fúndica	0 °C	4 °C	8 °C	B
24 horas	146,00±10,76	153,47±11,31	124,10±10,84	
96 horas	134,99±13,61	146,73±12,49	126,42±7,61	
15 dias	174,97±24,04	166,31±36,64	107,06±8,90	
30 dias	139,52±5,72	150,11±7,17	107,06±7,93	

Largura média das dobras gástricas (µm) – Região Pilórica	0 °C	4 °C	8 °C	C
24 horas	140,09±2,40	162,72±28,55	132,44±8,24	
96 horas	154,92±17,54	181,63±9,87	117,75±5,83	
15 dias	183,52±10,12	101,49±10,19	130,41±12,87	
30 dias	158,82±20,99	96,75±5,36	104,64±10,86	

A largura das dobras gástricas variou ao longo do seu eixo na grande maioria dos animais analisados (Figura 40). A análise de variância para a avaliação dessa variável morfométrica apresentou efeito significativo a 5% de probabilidade na região cárdica, nos indivíduos, controle e experimentais, mantidos durante 15 dias (0°C e 8°C) e 30 dias (0°C e 4°C; 0°C e 8°C) nas diferentes temperaturas. No primeiro grupo, os animais a 8°C apresentaram a largura das pregas gástricas em média 60,23% menor que os mantidos a 0°C (Figura 41). Enquanto, que no tempo de 30 dias verificou-se redução significativa da largura das dobras gástricas à medida que a temperatura aumentou, isto é, os valores variaram de uma média 195, 23±13,44 µm em 0°C, a 133,41±9,03 µm em 8°C (Figura 42).

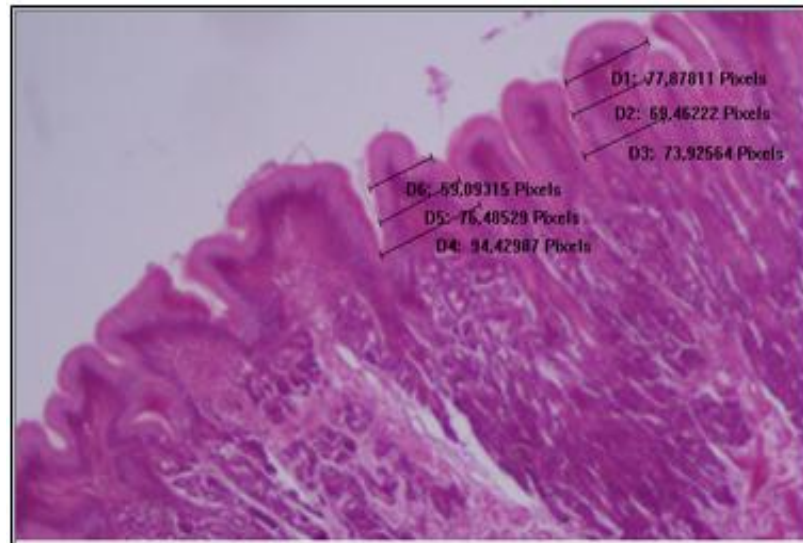


Figura 40. Exemplificação da variação da largura ao longo do eixo de cada uma das dobras gástricas utilizando o software Image Pro Plus.

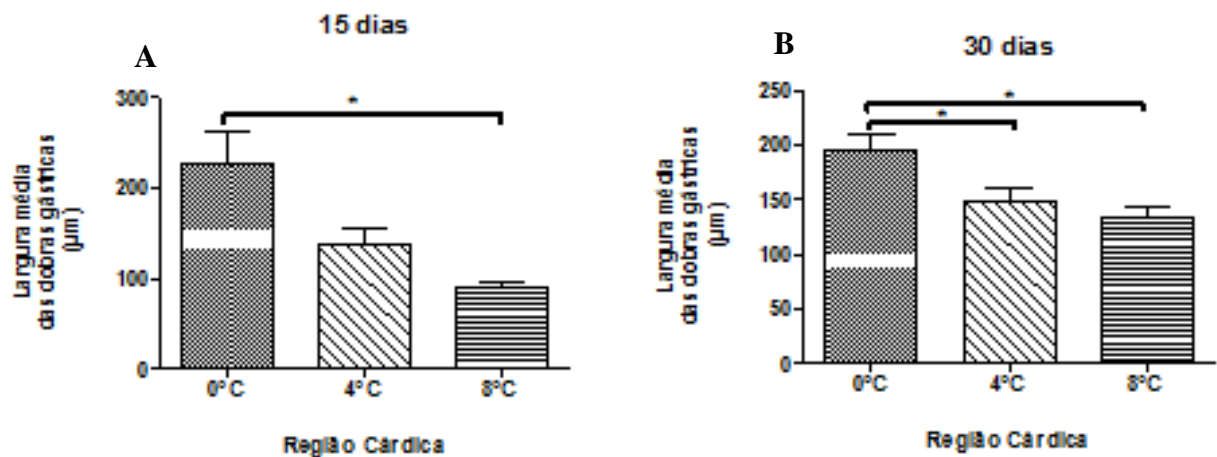


Figura 41. Largura média das dobras gástricas da região cárdica de *Notothenia rossii* mantidas nas três variáveis de temperatura. **A.** durante 15 dias e em **B.** por 30 dias. Observar que os indivíduos submetidos a temperatura de 8°C apresentam um valor muito menor para esse parâmetro.

Na região fúndica, analisando a largura das dobras gástricas, obteve-se diferença estatisticamente significativa entre os animais mantidos durante 30 dias a 0°C e 8°C, e a 4°C e 8°C.

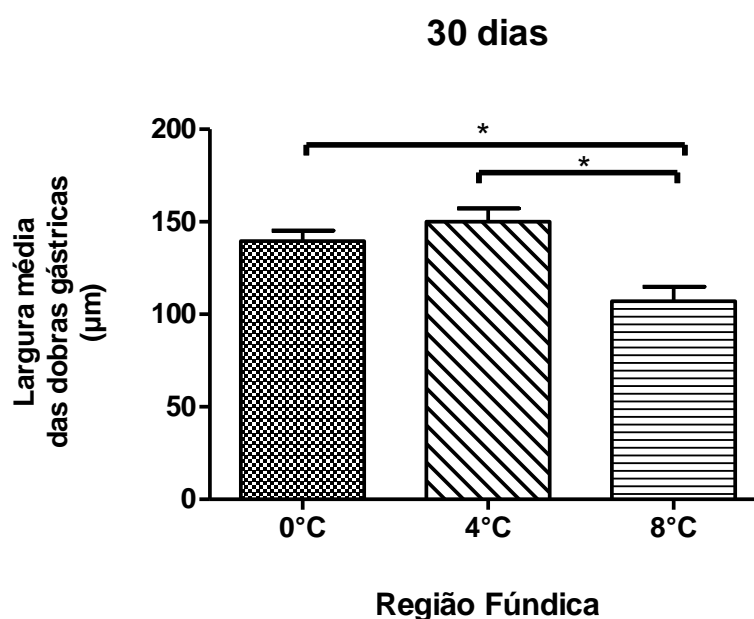


Figura 42. Largura média das dobras gástricas da região fúndica de *Notothenia rossii* mantidas nas três variáveis de temperatura durante 30 dias. Observar que os indivíduos submetidos a temperatura de 8°C apresentam dobras gástricas menos largas que nas outras duas condições.

Na região pilórica verificou-se que os animais mantidos durante 96 horas a 8°C apresentaram estreitamento significativo das dobras gástricas quando comparados com os indivíduos de 4°C, mas não quando comparados com os animais controle (Figura 43A). Os indivíduos mantidos durante 15 dias nas diferentes temperaturas testadas demonstraram variação significativa entre animais controle (0°C) e experimentais (4°C e 8°C) (Figura 43B).

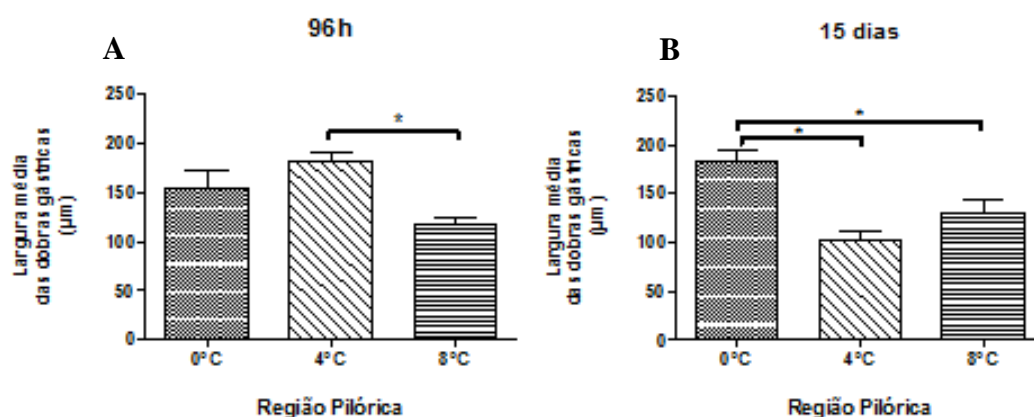


Figura 43. Largura média das dobras gástricas da região pilórica de *Notothenia rossii* mantidas nas três variáveis de temperatura **A.** durante 96 horas e em **B.** por 15 dias. Observar que os indivíduos submetidos a temperatura de 8°C apresentam média significativamente menor.

5.3 Resultados histoquímicos – estrutura padrão do estômago de *Notothenia rossii*

No epitélio de revestimento do estômago de *N. rossii*, mantidos a 0°C, observou-se os grânulos de secreção de muco com a utilização do Ácido Periódico de Schiff (PAS) e Alcian Blue pH 2,5 (Figuras 44 e 45). Evidenciando-se a presença de glicosaminoglicanos neutros e ácidos, respectivamente. Os testes com Alcian Blue pH 1,0 foram negativos, indicando que nesse tecido não há presença de glicosaminoglicanos ácidos sulfatados (Figura 46).

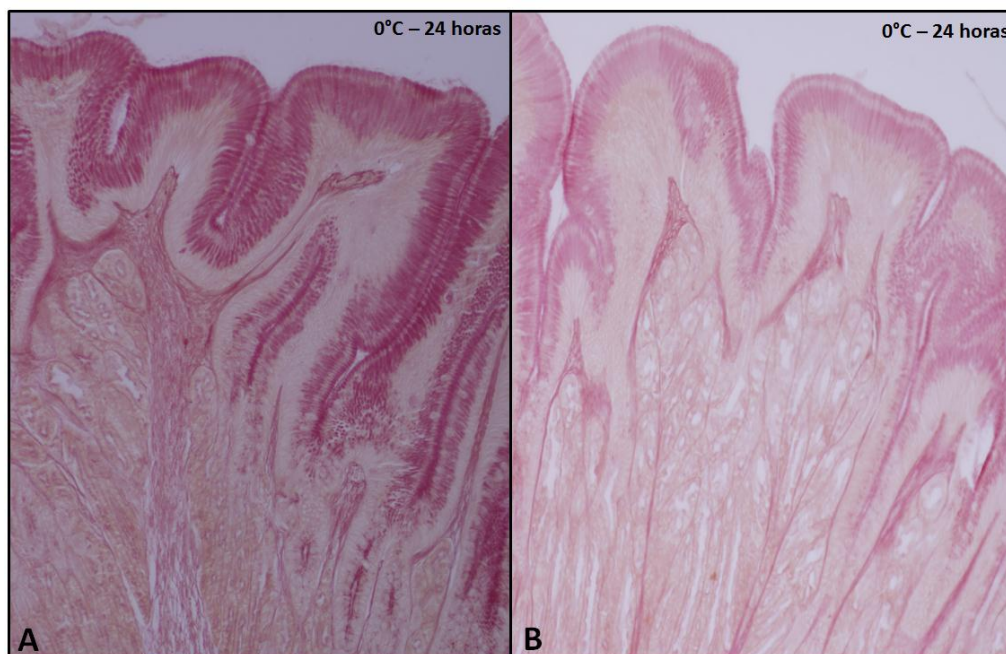


Figura 44. Microscopia de luz indicando o padrão apresentado diante da reação com o Ácido Periódico de Schiff (PAS) identificadas qualitativamente e quantitativamente no estômago de *Notothenia rossii* controle (0°C). **A.** Região cárdica do peixe controle mantido a 0°C por 24 horas. **B.** Região fúndica do peixe controle mantido a 0°C por 24 horas. Aumento de 240x.

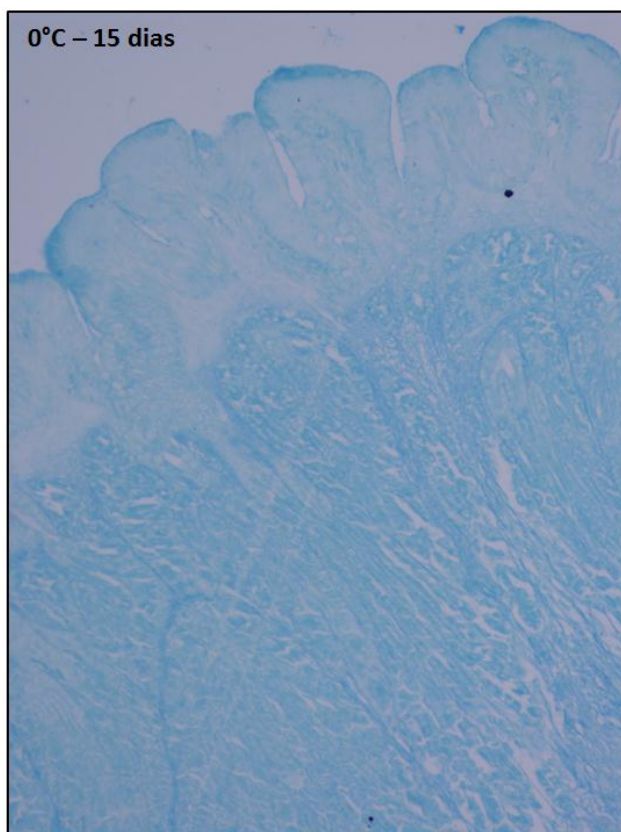


Figura 45. Microscopia de luz mostrando o padrão observado com a coloração de Alcian Blue pH 2,5 no estômago de *Notothenia rossii* mantido a 0°C por 30 dias. Aumento de 240x.

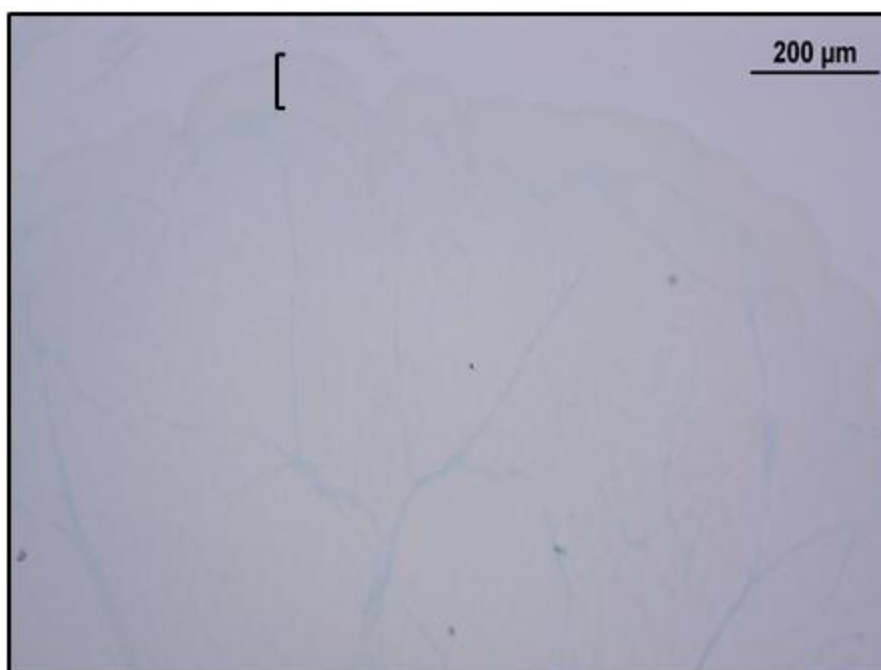


Figura 46. Microscopia de luz mostrando a reação negativa com a coloração de Alcian Blue pH 1,0 no epitélio de revestimento ([) do estômago de *Notothenia rossii* mantido a 0°C por 30 dias. Aumento de 120x.

5.4 Resultados histoquímicos – estômago de *Notothenia rossii* submetido ao estresse térmico

5.4.1 Detecção de glicosaminoglicanos neutros

Os dados obtidos pela análise das imagens demonstraram diferença estatisticamente significativa na expressão de glicosaminoglicanos neutros localizados na região cárdica entre animais, controle e experimentais mantidos durante 24 horas a 8°C (Figura 47 e 49). Na mesma região, animais controle (0°C) e experimentais (4°C e 8°C) mantidos durante 15 dias nas temperaturas testadas apresentaram variação significativa (Figura 48 e 49).

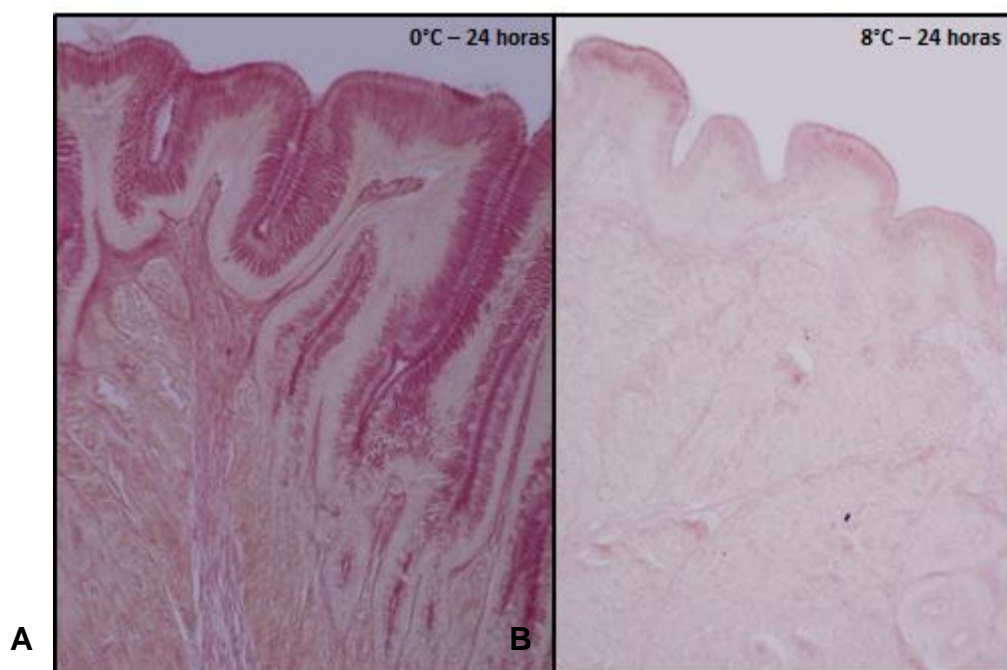


Figura 47. Microscopia de luz mostrando as diferentes intensidades da reação com o Ácido Periódico de Schiff (PAS) identificadas qualitativamente e quantitativamente na região cárdica do estômago de *Notothenia rossii*. **A.** Peixe controle (0°C-24 horas). **B.** Peixe experimental (8°C-24 horas). Aumento de 240x.

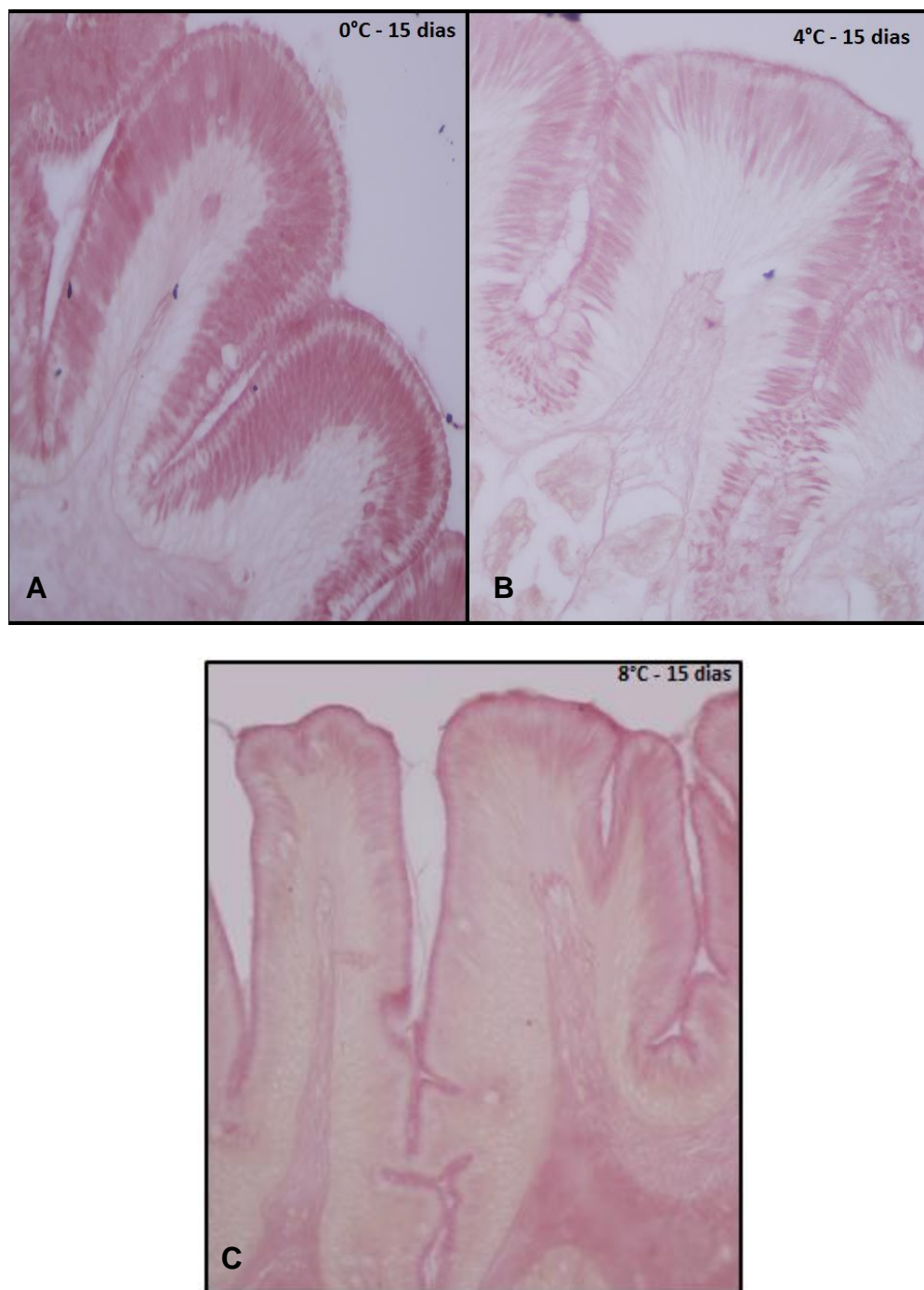


Figura 48. Microscopia de luz mostrando as diferentes intensidades da reação com o Ácido Periódico de Schiff (PAS) demonstrando a presença de glicosaminoglicanos neutros na região cárdica do estômago de *Notothenia rossii*. **A.** Peixe controle (0°C-15 dias). **B.** Peixe experimental (4°C-15 dias) **C.** Peixe experimental (8°C-15 dias).

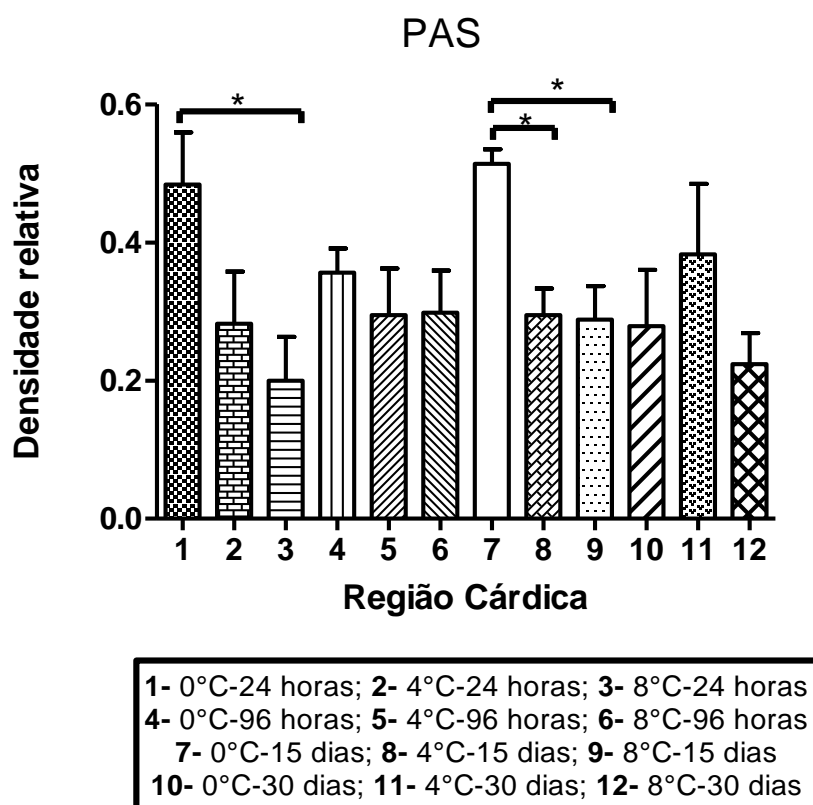


Figura 49. Expressão de glicosaminoglicanos neutros da região cárdica do estômago de *Nothotenia rossii*. Notar a diferença estatisticamente significativa (*) entre os grupos 1 e 3, 7 e 8, e, 8 e 9. $p < 0,05$.

Na região fúndica, não foi observada diferença significativa na expressão de glicosaminoglicanos neutros. Contudo, os indivíduos mantidos a 4°C apresentaram nos tempos de 24 horas, 96 horas e 15 dias uma reatividade maior a esse teste histoquímico (Figura 50 e Figura 51).

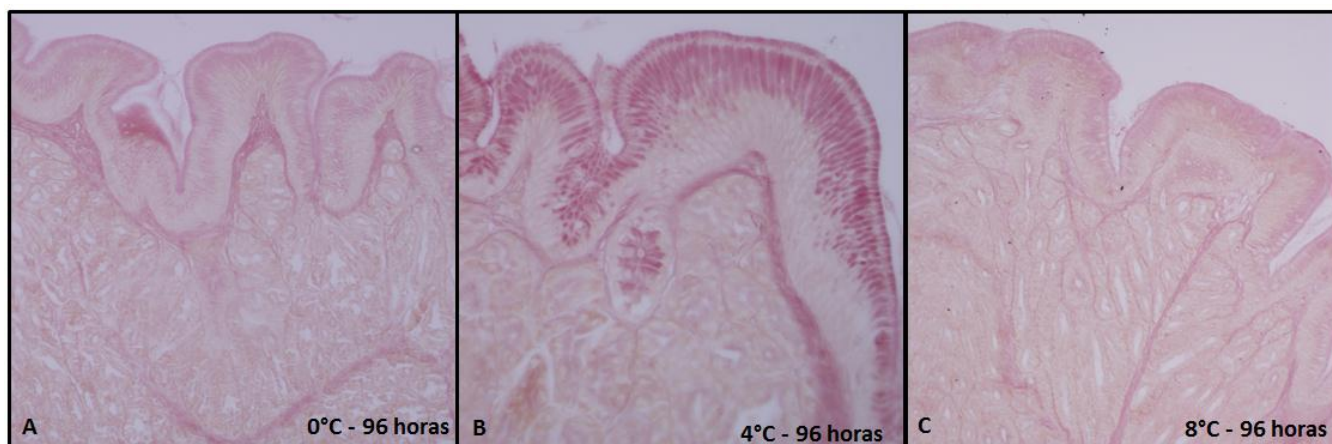


Figura 50. Microscopia de luz mostrando as diferentes intensidades da reação com o Ácido Periódico de Schiff (PAS) demonstrando a presença de glicosaminoglicanos neutros na região fúndica do estômago de *Nothotenia rossii*. **A.** Peixe controle (0°C-96 horas). **B.** Peixe experimental (4°C-96 horas) **C.** Peixe experimental (8°C-96 horas).

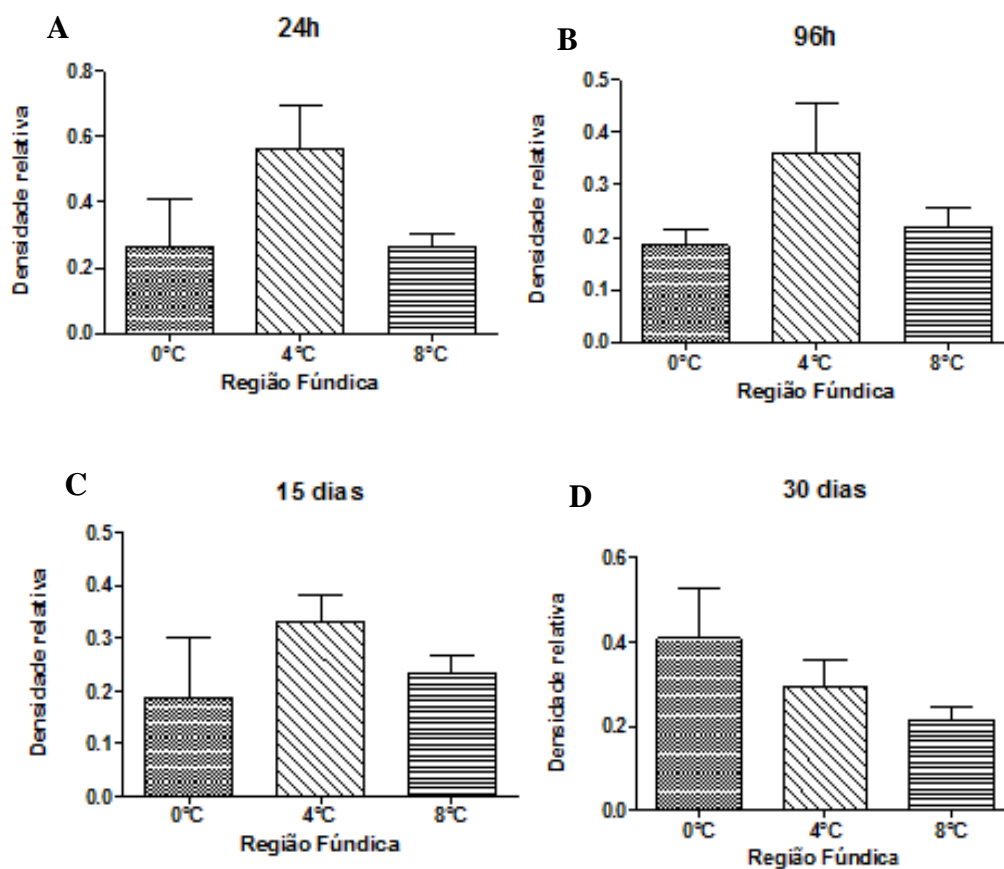


Figura 51. Expressão de glicosaminoglicanos neutros da região fúndica do estômago de *Notothenia rossii*. Observar que não foi evidenciada diferença significativa pelo teste de ANOVA em nenhum dos experimentos realizados. $p < 0,05$.

Na região pilórica também não foi observada diferença significativa na expressão de glicosaminoglicanos neutros. Além de não ter sido notado nenhum padrão para a ocorrência dos mesmos nas diferentes temperaturas nos quatro tempos de exposição (Figura 52).

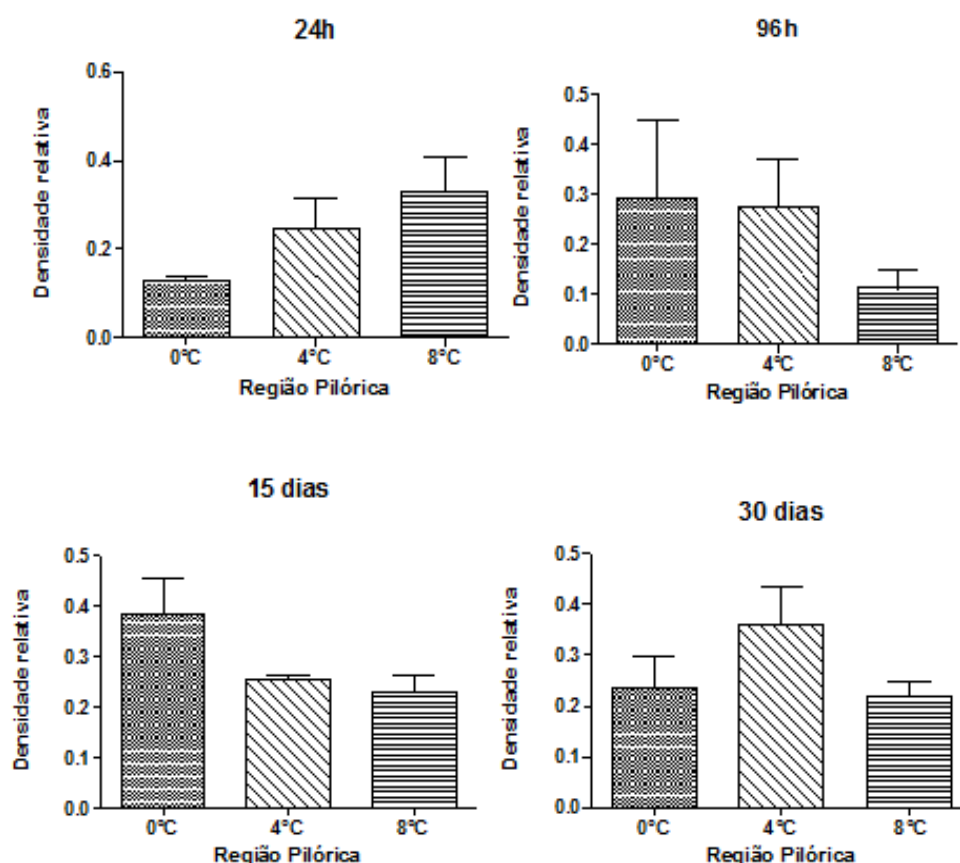


Figura 52. Expressão de glicosaminoglicanos neutros da região pilórica do estômago de *Notothenia rossii*. Observar que não foi evidenciada diferença significativa pelo teste de ANOVA, assim como na região fúndica. $p < 0,05$.

5.4.2 Detecção de glicosaminoglicanos ácidos

Observaram-se diferenças estatisticamente marcantes na expressão de glicosaminoglicanos ácidos no epitélio de revestimento da região cárdica entre os animais mantidos durante 24 horas a 4°C e 8°C (Figura 54 A). Os animais mantidos durante 96 horas de experimento demonstraram uma redução significativa na expressão de glicosaminoglicanos ácidos, onde o grupo exposto a 8°C apresentou variação significativa quando comparado com o controle e com os indivíduos de 4°C (Figuras 53 e 54B). Analisando ainda a região cárdica, não se observou diferenças estatisticamente significativas para a reatividade ao Alcian Blue pH 2,5, quando comparou-se animais, controle (0°C) e experimentais (4°C e 8°C) mantidos durante 15 dias nas diferentes temperaturas. Já, em animais, controle e experimental,

mantidos durante 30 dias a 8°C, verificou-se uma redução significativa quanto à presença de glicosaminoglicanos ácidos (Figuras 55 e 56).

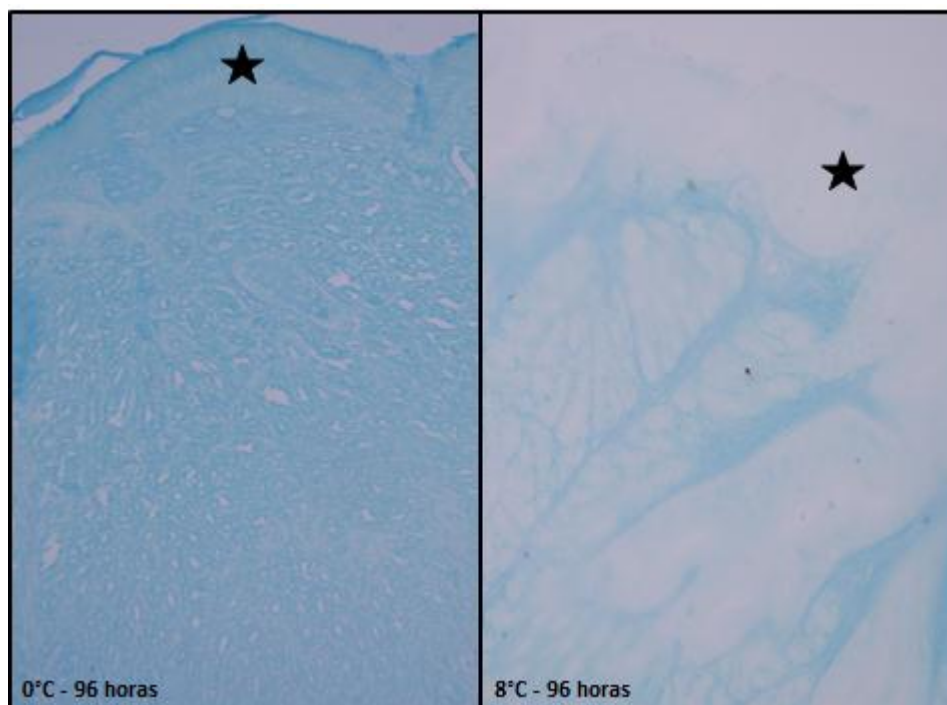


Figura 53. Microscopia de luz mostrando as diferentes intensidades da reação com o Alcian Blue pH 2,5 identificadas visualmente e estatisticamente no epitélio de revestimento (★) da região cárdica do estômago de *Notothenia rossii*. **A.** Peixe controle (0°C-96 horas). **B.** Peixe experimental (8°C-96 horas).

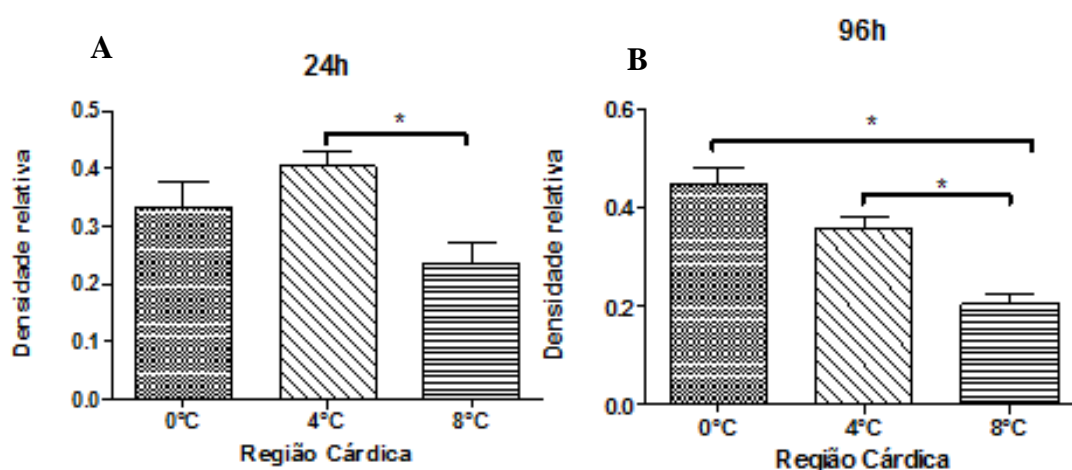


Figura 54. Densidade relativa de glicosaminoglicanos ácidos (Alcian blue pH 2,5) da região cárdica do estômago de *Notothenia rossii*. Notar a diferença significativa em **A.** entre os indivíduos que foram mantidos a temperaturas de 4°C e 8°C, e em **B.** entre os indivíduos submetidos a temperatura de 8°C quando comparados com os controle e os de 4°C. $p < 0,05$.

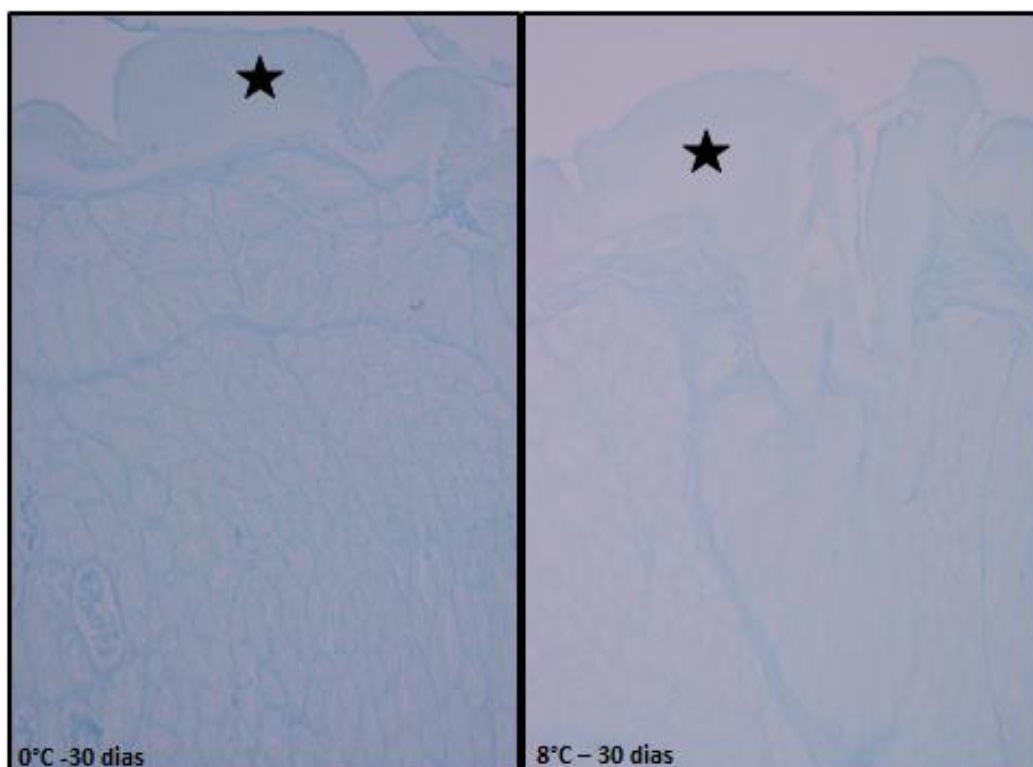


Figura 55. Microscopia de luz mostrando as diferentes intensidades da reação com o Alcian Blue pH 2,5 na região cárdica do estômago de *Notothenia rossii*. **A.** Peixe controle (0°C-30 dias). **B.** Peixe experimental (8°C-30 dias).

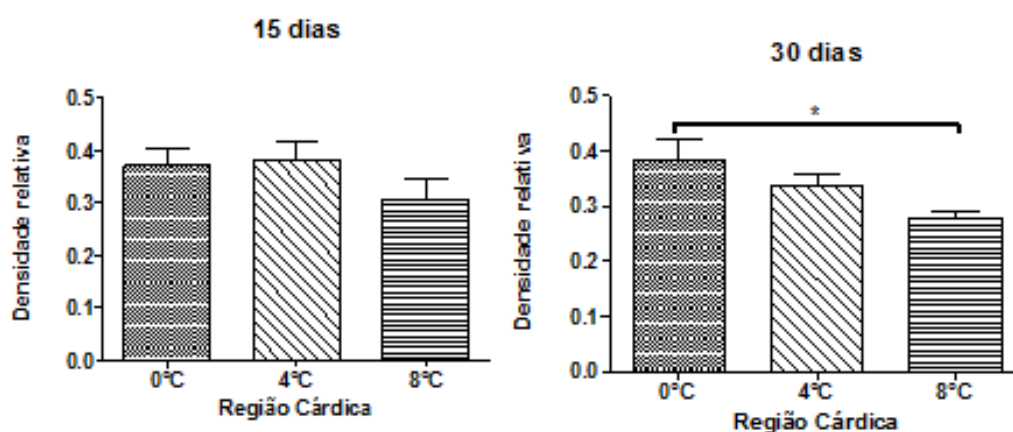


Figura 56. Expressão de glicosaminoglicanos ácidos (Alcian Blue pH 2,5) da região cárdica do estômago de *Notothenia rossii*. Observar a variação significativa entre os indivíduos de 0°C e os de 8°C, resultado obtido pelo teste de ANOVA seguido do pós teste de Tukey. $p < 0,05$.

Na região fúndica, nos tempos de 24 horas e 96 horas, observou-se o mesmo que na região cárdica. Ou seja, houve diferenças estatisticamente significativas na expressão de glicosaminoglicanos ácidos no epitélio de revestimento da região fúndica entre os animais mantidos durante 24 horas a 4°C e 8°C (Figura 57A). Os

animais mantidos durante 96 horas de experimento demonstraram uma redução significativa na expressão de glicosaminoglicanos ácidos, onde o grupo exposto a 8°C apresentou variação significativa quando comparado com o controle e com os animais mantidos a 4°C (Figura 57B). Já no tempo de 15 dias pode-se notar uma fraca presença de glicosaminoglicanos ácidos nos animais a 8°C, a qual é estatisticamente significativa quando confrontada com os de 4°C (Figura 57C). Enquanto que em 30 dias, o decaimento na expressão dessas macromoléculas pode ser observado no gráfico 57D, contudo, a diferença na densidade relativa entre os três grupos não é estatisticamente relevante.

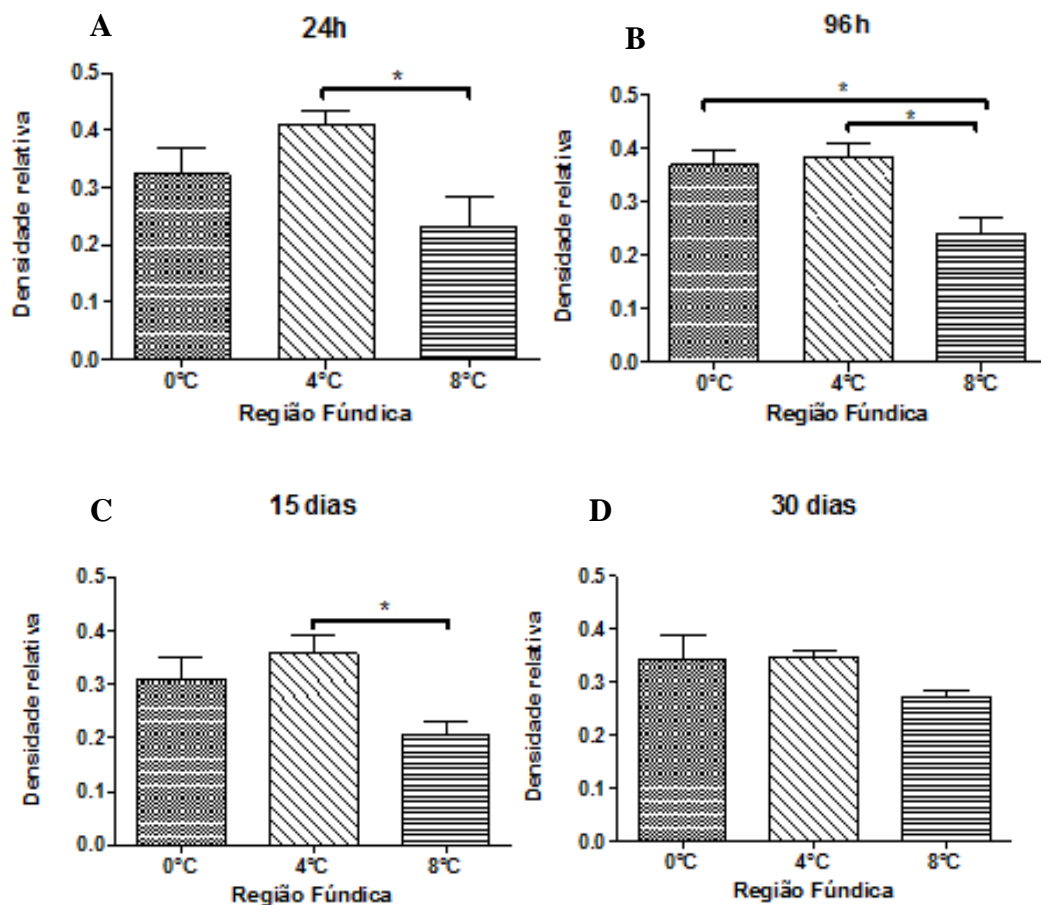


Figura 57. Expressão de glicosaminoglicanos ácidos (Alcian Blue pH 2,5) da região fúndica do estômago de *Notothenia rossii*. Observar as diferenças significativas, obtidas através do teste de Tukey, nos experimentos realizados. $p < 0,05$.

No epitélio de revestimento da região pilórica notou-se uma fraca presença de glicosaminoglicanos ácidos nos animais testados, especialmente naqueles mantidos a 8°C por 96 horas, 15 dias e 30 dias (Figura 57).

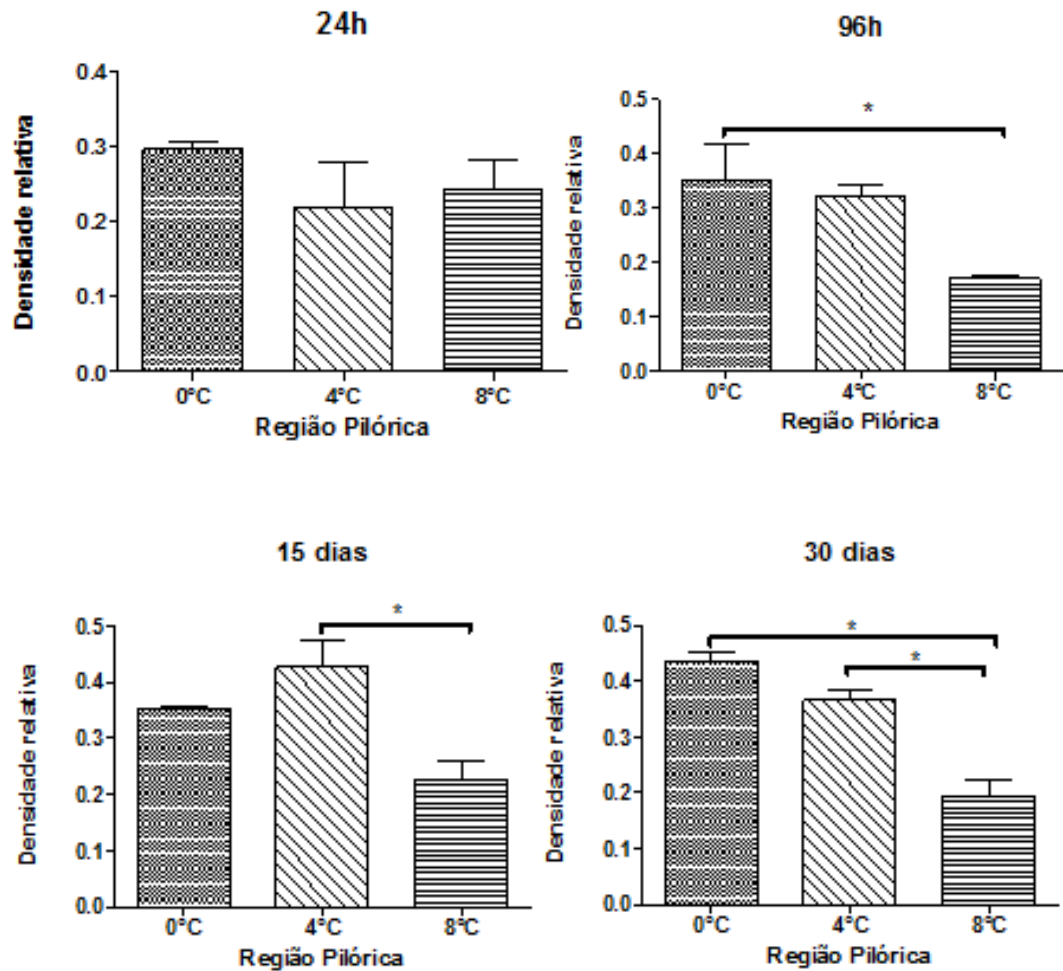


Figura 58. Expressão de glicosaminoglicanos ácidos (Alcian Blue pH 2,5) da região pilórica do estômago de *Notothenia rossii*. Os resultados foram obtidos a partir do teste de ANOVA seguido do pós teste de Tukey. $p < 0,05$.

6. DISCUSSÃO

A morfologia de um organismo é geralmente considerada um reflexo das pressões ecológicas por ele enfrentadas. Por isso, o alimento disponível em determinado ambiente é um dos fatores cruciais para a adaptação de uma espécie (FUGI & HAHN, 1991 *apud* MORAES, 1997; ALBRECHT *et al.* 2001; CARDOSO, 2005). Neste sentido, as características do sistema digestório podem indicar o hábito alimentar de um peixe, tendo em vista a natureza do alimento ingerido e a estrutura/função (CARDOSO, 2005; PILLAY, 1952 *apud* MONTENEGRO, 2009). Ou seja, as adaptações morfológicas correlacionam-se com as condições ecológicas como o habitat, hábito alimentar e composição da dieta (CARDOSO, 2005; RODRIGUES e MENIN, 2008). Ressaltando-se que espécies que apresentam recursos alimentares semelhantes, e não são próximas filogeneticamente, devem ter convergido evolutivamente para algumas das características morfológicas (CAL, 2006 *apud* WOOTON, 1990).

Além dos fatores alimentares, a temperatura é um fator ambiental de extrema importância, em especial na Antártica, já que organismos antárticos possuem uma pequena taxa de tolerância para a variação da temperatura afetando mecanismos morfofisiológicos, além da resposta metabólica no que tange principalmente os sistemas enzimáticos.

Nos peixes, a digestão química inicia-se no estômago, onde as secreções ácidas e as enzimas digestivas, liberadas por processos neurais e hormonais, atuam no alimento previamente digerido por via mecânica (boca) (BOMBARDELLI, 2004). Sabe-se que fatores como a temperatura, tempo pós-prandial, tipo e tamanho do alimento, grau de estresse, peso, tamanho e fisiologia do predador (JOBILING, 1987 *apud* SILVA e ARAÚJO-LIMA, 2003; BROMLEY, 1994; SALVANES *et al.*, 1995) influenciam no tempo de passagem do alimento pelo estômago. A temperatura em especial, age controlando o metabolismo dos peixes, havendo importante efeito sobre a taxa de alimentação, atividade das enzimas digestivas, motilidade gástrica e intestinal, taxa de secreção de sucos digestivos e taxa de absorção intestinal (SILVA e ARAÚJO-LIMA, 2003; KAPOOR, SMIT e VERIGHINA, 1975 *apud* CAL, 2006).

O trato digestório dos nototeniídeos como *Notothenia rossii* já foi descrito por Ojeda (1986) e Eastman e DeVries (1997), sendo o estômago anatomicamente em

forma de “J”, dividido em região anterior (cárdica), no limite com o esôfago, região mediana (fúndica) e região posterior (pilórica), em contato com o intestino (GOMES, 1981; KUCHINSKI, 1985). Existem pouquíssimos trabalhos que tratam da histologia estomacal de peixes antárticos (FREIBERGER, 1996; AKIYOSHI, 2011), e a estrutura histológica encontrada no presente estudo segue o padrão descrito para peixes teleósteos, ou seja, a parede estomacal de *Notothenia rossii* é formada por quatro camadas (túnicas) histológicas: a mucosa, a submucosa, a muscular e a serosa. Sendo tal conformação encontrada em peixes onívoros como *Oreochromis niloticus* (CACECI *et al.*, 1997), *Leporinus friderici* e *Leporinus taenofasciatus* (ALBRECHT *et al.*, 2001), *Pimelodus maculatus* (SANTOS *et al.*, 2007), *Pelteobagrus fulvidraco* (CAO e WANG, 2009), *Claris batrachus* (RAJI e NOROUZI, 2010); e, em carnívoros como *Notothenia neglecta* (*coriiceps*) (FREIBERGER, 1996); *Misgurnus mizolepis* (PARK e KIM, 2001), *Engraulis anchoita* (DÍAZ *et al.*, 2003), *Acestrorhynchus pantaneiro* (BICCA *et al.*, 2006), *Serrasalmus nattereri* (RAJI e NOROUZI, 2010), *Schilbe mystus* (NAGUIB *et al.*, 2011). Em contrapartida, o estômago do peixe *Epinephelus marginatus* (BORGES *et al.*, 2010) apresenta apenas as camadas mucosa, submucosa e serosa. Enquanto o do peixe *Nilotica mossambica zillii* (GARGIULO *et al.*, 1997) é formado pelas camadas histológicas mucosa, muscular e serosa.

Na literatura observam-se diversos trabalho sobre o efeito da temperatura na conversão alimentar e na evacuação gástrica (DIEFENBACH, 1975; JOBLING e DAVIES, 1979; MARQUES *et al.*, 1992; KAWAGUICHI, 2007; HANDELAND, 2008; KEHOE, 2008; PÉREZ-CASANOVA, 2009). Até o momento não foram encontrados estudos que relacionem a histologia estomacal de peixes sob os efeitos do estresse térmico. Estudos com mamíferos indicam que alterações na camada mucosa, a longo prazo, podem vir a prejudicar o esvaziamento gástrico, o que tende a levar a um aumento da concentração ácida no interior do estômago, colaborando para o aparecimento de úlceras gástricas (MEYER, 1999; GALVANINI, 2008). Há pesquisas que demonstram alterações histopatológicas no estômago de peixes submetidos ao estresse alimentar (inanição) (BA-OMAR e VICTOR, 2000; DOMENEGHINI, 2002). O estresse, em geral, leva a mudanças fisiológicas e, em casos crônicos, a histopatologias, sendo que as primeiras visam o restabelecimento da homeostase corporal através de respostas não específicas do organismo,

podendo levar ao comprometimento no desempenho, alterações no comportamento e consequentemente, a suscetibilidade a patologias (BA-OMAR e VICTOR, 2000; GALHARDO e OLIVEIRA, 2006; LIMA *et al.*, 2006).

Este trabalho difere dos citados anteriormente, pois realizou-se medidas histomorfométricas das quatro túnicas da parede estomacal, tanto em animais controle (0°C) quanto nos experimentais (4°C e 8°C). Nos animais controle (24 horas e 15 dias), variações histomorfométricas significativas foram observadas quando analisamos a espessura da camada muscular nas três regiões analisadas representadas respectivamente pelas Figuras 27 A e B. Ou seja, a espessura da túnica muscular das regiões cárdica e fúndica, em animais mantidos durante 15 dias a 0°C, apresentam-se menos espessa, enquanto na região pilórica é bastante desenvolvida, apresentando uma média de 1887,79 µm. Sugerindo-se a facilitação da expulsão do alimento pela atividade peristáltica para o intestino (SANTOS *et al.*, 2007; RODRIGUES e MENIN, 2008), isto é, há regulação do fluxo de alimento já digerido pelo esfíncter pilórico. Nos peixes, de modo geral, observa-se que os diâmetros dos orifícios cárdico e pilórico são distintos. O orifício cárdico é mais amplo, dando prosseguimento ao esôfago, enquanto o orifício pilórico é estreito (OWEN, 1866 *apud* RODRIGUES e MENIN, 2008).

Conforme, Chaves e Vazzoler (1984), na primeira porção estomacal (a região cárdica) ocorre a síntese e a secreção dos produtos digestivos para a luz do órgão, os quais atuarão sobre o alimento. Acredita-se que a túnica muscular da mucosa deva estar relacionada ao movimento de pressão sobre as glândulas, para a eliminação de seus produtos e consequente mistura com o bolo alimentar (CHAVES e VAZZOLER, 1984; ALBRECHT, 2001; SILVA *et al.*, 2005). Além disso, o tubo digestório é ricamente innervado, sendo que parte dos neurônios entéricos encontram-se organizados nos plexos ganglionados mientérico e submucoso localizados desde o esôfago até o canal anal. Onde são responsáveis por controlar os movimentos e secreções do tubo digestório (GERMANO *et al.*, 2008). Bastos-Ramos *et al.* (2000) demonstraram o efeito da temperatura sobre a musculatura lisa do intestino dos peixes antárticos *Notothenia neglecta (coriiceps)* e *Chaenocephalus aceratus* verificando que em baixas temperaturas a contração muscular é de longa duração, enquanto que ao aumentar a temperatura gradualmente houve proporcionalmente o relaxamento muscular. Sendo que tais experimentos permitiram

a análise apenas da influência dos plexos neurais locais, tendo em vista que o órgão foi isolado para o estudo. Desta forma, pode ter ocorrido, o comprometimento das ondas peristálticas e do controle da passagem do conteúdo de um segmento digestório para outro.

Este estudo não teve o objetivo de descrever as glândulas gástricas, mas, foi observado na camada mucosa, de *Notothenia rossii* mantidas nos diferentes tempos a 0°C inúmeras fossetas gástricas de pequena profundidade e glândulas tubulares gástricas ocupando a lâmina própria. Diversos estudos relatam que as glândulas gástricas em peixes são constituídas por um único tipo celular, as células oxintopépticas (FANGE & GROVE, 1979 *apud* BICCA, 2006; FRANCO, 1994; FREIBERGER, 1996; GARGIULO *et al.*, 1997; OLIVEIRA-RIBEIRO e FANTA, 2000; SILVA *et al.*, 2005; BICCA *et al.*, 2006; SANTOS, 2007; WILSON e CASTRO, 2011), as quais podem ser relacionadas com as células principais e parietais de mamíferos, que secretam o ácido clorídrico e o pepsinogênio. Acredita-se que ambas apareceram em um único tipo celular, pois a pepsina requer um ambiente com pH baixo para a sua ótima atividade enzimática (FREIBERGER, 1996). Assim sendo, o epitélio glandular secreta para o lúmen do estômago as substâncias digestivas que atuarão sobre o alimento. Enquanto que, na região pilórica não se observam glândulas gástricas na camada mucosa, a qual mostra-se relativamente menos espessa.

Analisando os resultados histomorfométricos dos estômagos de *Notothenia rossii* submetidos ao estresse térmico (4°C e 8°C), observamos variações significativas na espessura da túnica mucosa (Figuras 28 e 30) e da túnica muscular (Figuras 35 e 36) enquanto que na túnica submucosa (Figuras 31, 32 e 33) não foi observada nenhuma variação significativa. Analisando a espessura da túnica mucosa na região cárdica, observamos variação significativa entre animais controles e experimentais, mantidos durante 96 horas a 8°C e entre animais mantidos durante 30 dias a 4°C e 8°C e na região pilórica a túnica mucosa apresentou variação significativa de espessura entre os grupos experimentais (4°C e 8°C) mantidos durante 96 horas. Quando analisamos a espessura da túnica muscular da região fúndica verificamos variação significativa entre animais controles e experimentais, mantidos durante 24 horas a 8°C. Já, na região pilórica, a variação da espessura da

camada muscular foi significativa entre animais controles e experimentais, mantidos durante 96 horas a 4°C.

As dobras gástricas foram analisadas (tanto a altura quanto a largura) nas regiões cárdica, fúndica e pilórica do estômago em *Notothenia rossii* controle (0°C) e experimentais (4°C e 8°C). Em *Notothenia rossii* observou-se que os peixes mantidos a 8°C, de maneira geral, apresentavam uma menor largura e altura das dobras gástricas em relação aos de 0°C. Por exemplo, animais mantidos durante 96 horas a 4°C e 8°C apresentaram efeito significativo para a altura das dobras gástricas na região fúndica, quando comparados com os indivíduos controle (Figura 38 e Tabela 4) havendo um achatamento das dobras gástricas. Enquanto que, ao analisar a largura das dobras gástricas obteve-se diferença estatisticamente significativa entre os animais mantidos durante 30 dias a 0°C e 8°C, e a 4°C e 8°C. Os resultados obtidos diferem dos estudos feitos em peixes teleósteos, em condições normais de temperatura, em que, as dobras gástricas têm início na porção cranial da região cárdica e são pouco profundas. Depois elas vão se tornando progressivamente mais profundas ao longo do estômago, atingindo o máximo de desenvolvimento na região pilórica (ROTTA, 2003).

Algumas dobras gástricas apresentavam invaginações secundárias, proporcionando uma maior área de secreção (BICCA *et al.*, 2006). No estômago, há o início da absorção de moléculas alimentares pelas células epiteliais, onde as enzimas relacionadas tanto com os processos digestivos como aos absorptivos estão localizadas, bem como na mucosa intestinal (LUNDSTEDT, 2003).

As células epiteliais de revestimento de *Notothenia rossii*, controle (0°C) e experimentais (4°C e 8°C), apresentam conteúdo mucoso reativo aos testes histoquímicos para a detecção de glicosaminoglicanos neutros e ácidos carboxilados e sulfatados. Havendo a predominância do primeiro grupo. A secreção de tais substâncias possui diversas funções como: lubrificação, digestão, absorção, controle de doenças infecciosas e colonização de microrganismos nocivos ou oportunistas (CAO e WANG, 2009 *apud* ZACCONE *et al.*, 1989; LORETZ, 1995; DÍAZ *et al.*, 2003; DÍAZ *et al.*, 2008; DOMENEGHINI *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2007). Além de regular o pH do suco gástrico, explicando a variação do mesmo nas diversas espécies com hábitos alimentares distintos (OSMAN e CACECI, 1991). Desantis *et*

al. (2009) destacam que as glicoproteínas ácidas sulfatadas podem vir a formar um complexo com a pepsina funcionando como tampão enzimático.

A natureza das mucossubstâncias presentes no estômago têm sido estudada em diversas espécies de peixes (OLIVEIRA-RIBEIRO e FANTA, 2000; PARK e KIM, 2001; PEDINI *et al.*, 2001; DÍAZ, 2003; DOMENEGHINI *et al.*, 2005; PETRINEC *et al.*, 2005; SANTOS *et al.* 2007; CAO e WANG, 2009; RAJI e NOROUZI, 2010; NAGUIB *et al.*, 2011). Wilson e Castro (2011) relatam que nos peixes “goboid” não é detectado a presença de muco na superfície luminal do estômago, sugerindo que a digestão ácida não é significativa, tendo em vista que não há camada de muco para a proteção da parede gástrica.

Conforme Murray *et al.* (1996), o perfil histoquímico entre as espécies não segue a um padrão, pois deve-se levar em consideração a preferência alimentar e o desempenho fisiológico para a digestão em cada grupo. Lembrando-se que a ocorrência das mucinas pode fornecer os cofatores necessários para a degradação enzimática do alimento (DÍAZ *et al.*, 2003; WILSON e CASTRO, 2011).

Com a técnica do PAS, verificou-se que estatisticamente houve variações na detecção de mucossubstâncias neutras na região cárdica entre os indivíduos aclimatados a 0°C e a 8°C, pelo período de 24 horas. Além de diferenças marcantes entre os grupos experimentais (4°C e 8°C – 15 dias) quando comparados com as amostras de 0°C. Dessa forma, pode-se supor que os peixes estão com o funcionamento metabólico acelerado tentando adaptar-se a condição térmica imposta. Já, nas regiões fúndica e pilórica, não foram observadas diferença significativa na expressão de glicosaminoglicanos neutros.

Observaram-se diferenças estatisticamente marcantes na expressão de glicosaminoglicanos ácidos no epitélio de revestimento da região cárdica entre os animais mantidos durante 24 horas a 4°C e 8°C. Os animais mantidos durante 96 horas de experimento demonstraram uma redução significativa na expressão de glicosaminoglicanos ácidos, onde o grupo exposto a 8°C apresentou variação significativa quando comparado com o controle e com os indivíduos de 4°C. Em animais, controle e experimental, mantidos durante 30 dias a 8°C, verificou-se uma redução significativa quanto à presença de glicosaminoglicanos ácidos. Na região fúndica, nos tempos de 24 horas e 96 horas, observou-se o mesmo que na região cárdica. Já no tempo de 15 dias pode-se notar uma fraca presença de

glicosaminoglicanos ácidos nos animais a 8°C, a qual é estatisticamente significativa quando confrontada com os de 4°C. Enquanto que em 30 dias o decaimento na expressão dessas macromoléculas pode ser observado no gráfico 56 D, contudo, a diferença na densidade relativa entre os três grupos não é estatisticamente relevante.

A expressão dos glicosaminoglicanos é relacionada a muitas doenças, apresentando diferenças na sua composição entre a mucosa gástrica normal e durante as situações de estresse (MELO-JUNIOR *et al.*, 2006). De maneira geral, observou-se uma menor expressão de mucossubstâncias ácidas nas *Notothenia rossii* que permaneceram a 8°C, sugerindo que o peixe esteja gastando energia em outros processos metabólicos essenciais à sua sobrevivência. Já que, os ajustes compensatórios podem alterar os sistemas fisiológicos por pouco tempo ou até mesmo por meses (ROBINSON e DAVISON, 2008). Além das modificações fisiológicas citadas anteriormente ocorrem alterações nos batimentos cardíacos e na respiração. De um modo geral, há aumento da frequência cardíaca, assim como da ventilação branquial, causadas pelo aumento do metabolismo, necessários para o suprimento de oxigênio nos tecidos (MACIEL JUNIOR, 2006; FRANKLIN *et al.*, 2007) como estudado no peixe antártico *Pagothenia borchgrevinki* (FRANKLIN *et al.*, 2007). Clarke e Johnston (1999) relataram que o metabolismo de repouso de peixes antárticos é mais eficiente que de peixes tropicais mantidos a 30°C. Ou seja, peixes tropicais necessitam, em média, seis vezes mais oxigênio que peixes adaptados ao frio extremo.

Os dados obtidos indicam que, histológica e histoquimicamente, o estômago não apresenta alterações padrões que permitam concluir que não esteja ocorrendo a sua plena funcionalidade, apesar dos animais estarem submetidos ao estresse térmico. Vale citar que Seebacher *et al.* (2005), Robinson e Davison (2008) estudaram o peixe antártico *Pagothenia borchgrevinki* que também foi aclimatado a 4°C, e os autores afirmaram que fisiologicamente a espécie é capaz de sobreviver por longos períodos nessa temperatura.

7. CONCLUSÕES

1. A estrutura histológica do estômago de *Notothenia rossii* é formada por quatro túnicas histológicas: a mucosa, a submucosa, a muscular e a serosa.
2. As regiões cárdica e fúndica do estômago são glandulares, enquanto a porção pilórica é aglandular.
3. A espessura da túnica mucosa nas regiões cárdica, fúndica e pilórica de *Notothenia rossi* mantidos a 0°C apresenta-se estatisticamente equivalente.
4. A túnica submucosa apresenta-se homogênea por toda a extensão do órgão dos animais controle (0°C).
5. A túnica muscular é significativamente maior, estatisticamente e visualmente, na região pilórica em comparação as regiões cárdica e fúndica, nos animais mantidos a 0°C durante 24 horas e 15 dias.
6. Na túnica mucosa da região cárdica, nos animais mantidos a 8°C, durante 96 horas observou-se variação significativa quando comparados com os animais controles. Bem como entre os indivíduos experimentais mantidos durante 30 dias (4°C e 8°C).
7. Na região pilórica observou-se um aumento significativo na espessura da túnica mucosa dos animais mantidos durante 96 horas a 8°C quando comparados com o grupo experimental submetido a 4°C.
8. A espessura da túnica muscular da região fúndica sofreu variação significativa entre animais controles e experimentais (8°C- 24 horas).
9. Entre animais controles e experimentais (4°C-96horas) houve variação significativa da espessura da túnica muscular na região pilórica.

10. Nos animais mantidos a 8°C, de maneira geral, observou-se uma menor espessura e altura das dobras gástricas em relação aos animais controle (0°C).
11. A presença de glicoproteínas neutras mostra-se evidente pela reação de PAS, enquanto a presença de glicoproteínas ácidas (carboxiladas e sulfatadas) coradas com a técnica de AB pH 2,5 é fraca, e as glicoproteínas ácidas (sulfatadas) não foram encontradas utilizando-se a técnica de AB pH 1,0.
12. O estresse térmico levou a uma redução na expressão de glicosaminoglicanos neutros localizados na região cardíaca entre animais, controle e experimentais, mantidos durante 24 horas (8°C) e 15 dias (4°C e 8°C).
13. Qualitativamente observou-se uma maior expressão de glicosaminoglicanos neutros nos animais experimentais mantidos a 4°C durante 24 horas, 96 horas e 15 dias.
14. A expressão de glicosaminoglicanos ácidos carboxilados e sulfatados, na região cardíaca, apresentou-se significativamente menos intensa nos animais mantidos a 8°C (24 horas, 96 horas e 15 dias).
15. A expressão de glicosaminoglicanos ácidos carboxilados e sulfatados, na região fúndica, apresentou-se significativamente menos intensa em animais mantidos a 8°C durante 24 horas, 96 horas e 15 dias.
16. Na região pilórica também notou-se uma fraca presença de glicosaminoglicanos ácidos principalmente nos animais mantidos a 8°C por 96 horas, 15 dias e 30 dias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIYOSHI, H.; YAMAMOTO, T.; TANABE, Y.; KUDOH, S. Comparative morpho-functional study in the digestive organs of the Antarctic rock cod, *Trematomus bernacchii*, in relation phylogeny. In: Symposium on Polar Science. 2011.
- ALBANO, M.B. **Análise histológica dos efeitos do corticoesteróide na cartilagem hialina do joelho de coelhos utilizando as colorações hematoxilina-eosina e safranina O.** 2005. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica). Universidade Federal do Paraná.
- ALBRECHT, M.P.; FERREIRA, M.F.N; CARAMACHI, E.P. Anatomical features and histology of the digestive tract of two related neotropical omnivorous fishes (Characiformes; Anastomidae). **Journal of Fish Biology** 58: 419-430. 2001.
- ANJOS, A. dos. 2008. Análise de Variância. Disponível em: <<http://www.est.ufpr.br/ce003/material/cap7.pdf>>. Acesso em: set. 2011.
- ARELLANO, J.M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C. Histological and histochemical observations in the stomach of the Senegal sole, *Solea senegalensis*. **Histol. Histopathol.** 16 (2): 511-521. 2001.
- BANCROFT, J.D; STEVENS, A. **Theory and practice of histological techniques.** Nova York: Churchill livingstone. 766p. 1996.
- BA-OMAR, T.A.; VICTOR, R. Ultrastructural changes in the epithelium of the stomach of *Aphanius dispar* (Cyprinodontidae), due to stress from starvation. **Science and Technology.** 5: 1-9. 2000.
- BARRERA-ORO, E.R.; CASAUX, R.J. Feeding selectivity in *Notothenia neglecta* from Potter Cove, South Shetland Islands, Antarctica. **Antarct. Sci.** 2 (3): 207-213. 1990.
- BARRERA-ORO, E.R.; PIACENTINO, G. L. M. Feeding habits of juvenile *Trematomus newnesi* (Pisces, Nototheniidae) at Potter Cove, South Shetland Island, Antarctica. **Polar Biology**, 30(6): 789-796. 2006.
- BARRERA-ORO, E.R.; WINTER, D.J. Age composition and feeding ecology of early juvenile *Notothenia rossii* (Pisces, Nototheniidae) at Potter Cove, South Shetland Islands, Antartic. **Antarctic Science** 20 (4): 339-341, 2008.
- BARROSO, M.F.S. **Efeitos ecotoxológicos de pesticidas e factores abióticos em *Daphnia magna*.** 2009. Dissertação (Mestrado em Contaminação e Toxicologia Ambientais). Universidade do Porto.
- BASTOS-RAMOS, W.P.; HOSHINO, K.; BACILA, M. Temperature-dependent tonic contraction of smooth muscle in Antarctic fishes *Notothenia neglecta* and *Chaenocephalus aceratus* – Role of calcium ions and responses to acetylcholine. **Polar Biosci.** 13: 74-86. 2000.

BELLISIO, N.B. **Peces antárticos del sector argentino. Taxonomia y biología de *Chaenocephalus aceratus* y *Notothenia neglecta* de Orcades Del Sur.** Buenos Aires, Secretaria de Marina Servicio de Hidrografia Naval. Publicacion H. 900, 90 pp. 1964.

BESSA, E.G.; PAIVA, P.C.; ECHEVERRÍA, C.A. Distribuição vertical no sedimento dos grupos funcionais de anelídeos poliquetas em uma área da Enseada Martel, Baía do Almirantado, Antártica. **Oecol. Bras.**, **11 (1)**: 95-109, 2007.

BICCA, D.F.; QUEROL, E.; BRACCINI, M.C. Aspectos morfológicos e histológicos do estômago de *Acestrorhynchus pantaneiro* (Menezes, 1992) (Teleostei, Acestrorhynchidae) na bacia do rio Uruguai médio. **Biodivers. Pampeana** **4**. 2006.

BINTANJA, R. BROEKE, M. R. **Momentum and scalar transfer coefficients over aerodynamically smooth antarctic surfaces**, 1995.

BOMBARDELLI, R.A. Metabolismo protéico em peixes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**. Umuarama, v. 7, n. 1, p. 69-79, 2004.

BORGES, J.C.S.; SANCHES, E.G.; OLIVEIRA, M.S.; SILVA, J.R.M.C. Anatomia e histologia gastrintestinal da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Teleostei, Serranidae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, **32 (4)**: 407-414. 2010.

BREMER, U.F. **Solos e geomorfologia da borda leste da Península Warszawa, Ilha Rei George, Antártica Marítima**. 2008. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas). Universidade Federal de Viçosa.

BROMBERG, S. **Distribuição dos anelídeos poliquetas na zona costeira rasa da Enseada Martel, Baía do Almirantado (Ilha Rei George – Antártica)**. Dissertação de MSc., Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 1999.

BROMLEY, P.J. The role of gastric evacuation experiments in quantifying the feeding rates of predatory fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**. **4**: 36-66. 1994.

BURCHETT, M. S. Age and growth of the Antarctic fish *Notothenia rossii* from South Georgia. **Antarctic Survive Bulletin**, **60**: 45-61, 1983.

BUSHULA, T.; PAKHOMOV, E.A.; KAEHLER, S.; DAVIS, S.; KALIN, R. M. Diet and daily ration of two nototheniid fish on the shelf of the sub-Antarctic Prince Edward Islands. **Polar Biology**, **28(8)**: 585-593. 2005.

CACECI, T.; EL-HABBACK, H.A.; SMITH, S.A. e SMITH, B.J. The stomach of *Oreochromis niloticus* has three regions. **Journal of Fish Biology** **50**, 939-952, 1997.

CAL, J.A. **Histologia do trato digestório de surubim-pintado (*Pseudoplatystoma coruscans* – Agassiz – 1820)**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo.

CAMPOS, Débora Y.F. **Análise das citogenotóxicas e histopatológicas do peixe *Trematomus newnesi* exposto à água do mar diante da Estação Antártica Brasileira “Comandante Ferraz”, Ilha Rei George, Antártica.** 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências, Oceanografia Biológica). Universidade de São Paulo.

CAO, X.J. e WANG, W.M. Histology and mucin histochemistry of the digestive tract of Yellow Catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*. **Anat. Histol. Embryol.** **38**, 254-261, 2009.

CARDOSO, Wagner E. **Morfologia e Ultraestrutura do intestino do peixe antártico *Notothenia rossi* RICHARDSON, 1844 e sua relação com o hábito alimentar.** 2005. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular). Universidade Federal do Paraná.

CHAVES, P.T.C.; VAZZOLER, G. Aspectos biológicos de peixes amazônicos. III. Anatomia microscópica do esôfago, estômago e cecos pilóricos de *Semaprochilodus insignis* (Characiformes: Prochilodontidae). **Acta Amazonica**. 14 (3-4): 343-353, 1984.

CHEN, L.; DE VRIES, A. L. e Cheng, C. C. Convergent evolution of antifreeze glycoproteins in Antarctic notothenioid fish and Arctic cod. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Evolution**. V. 94, p. 3817–3822. 1997.

CHENG, C.H.; CHEN, L.; NEAR, T. J.; JIN, Y. Functional antifreeze glycoprotein genes in temperate-water New Zealand nototheniid fish infer an Antarctic evolutionary origin. **Mol. Biol. Evol.** 20(11):1897–1908. 2003.

CLARKE, A.; JOHNSTON, I. A. Evolution and adaptive radiation of Antarctic fishes. **TREE**. 11:212–218, 1996.

CLARKE, A.; JOHNSTON, N.M. Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. **J. Anim. Ecol.** 68: 893-905. 1999.

CLARKE, A.; MURPHY, E.J.; MEREDITH, M.P.; KING, J.C.; PECK, L.S.; BARNES, D.K.A.; SMITH, R.C. **Climate change and the marine ecosystem of the western Antarctic Peninsula.** Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 362, 149-166, 2007.

Comission for the Conservation of Antarctic Marine Living Resources (CCAMLR). Disponível em: <<http://www.ccamlr.org>>. Acesso em: 2011.

CULLINS, T.L.; DE VRIES, A.L.; Torres, J.J. Antifreeze proteins in pelagic fishes from Marguerite Bay (Western Antarctica). **Deep-Sea Research II**, 58: 1690-1694. 2011.

CYRINO, J.E.P.; BICUDO, A.J.A.; SADO, R.Y.; BORGHESI, R.; DAIRIKI, J.K. A piscicultura e o ambiente – o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Rev. Bras. Zootecnia**, n.39, 2010.

DANI, N.; SOUZA, S. F.; DEBIASI, P. AHLERT, S. **Emprego da fotogrametria digital no mapeamento da área Antártica especialmente gerenciada da Baía do Almirantado**. INPE: Anais XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. p. 1191-1198, 2005.

DESANTIS, S.; ACONE, F.; ZIZZA, S.; DEFLORIO, M.; FERNÁNDEZ, J.L.P.; SARASQUETE, C.; DEMETRIO, G. Glycohistochemical study of the toadfish *Halobatrachus didactylus* (Scheider, 1801) stomach. **Scientia Marina**. 73 (3): 515-525. 2009.

DIAS, T.C.R. **Efeito da temperatura de cultivo na fisiologia da digestão e metabolismo do pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887)**. 1998. Tese. Universidade Estadual Paulista (Jaboticabal).

DÍAZ, A.O.; GARCÍA, A.M.; DEVINCENTI, C.V.; GOLDEMBERG, A.L. Morphological and histochemical characterization of the mucosa of the digestive tract in *Engraulis anchoita* (Hubbs and Marini, 1935). **Anat. Histol. Embryol**. **32**: 341-346, 2003.

DÍAZ, A.O.; GARCÍA, A.M.; FIGUEROA, D.E.; GOLDEMBERG, A.L. The mucosa of the digestive tract in *Micropogonias furnieri*: A Light and Electron microscope approach. **Anat. Histol. Embryol**. **37**: 251-256, 2008.

DIEFENBACH, C.O.C. Gastric function in *Caiman crocodilus* (Crocodylia: Reptilia) – I. Rate of gastric digestion and gastric motility as a function of temperature. **Comp. Biochem. Physiol**. 51A: 259-265. 1975.

DI FIORE, M.S.H.; MANCINI, R.E.; ROBERTIS, E.D.P. **Novo Atlas de Histologia**. Microscopia óptica, histoquímica e microscopia eletrônica. 5ª edição. Guanabara Koogan. 1982.

DI PRISCO, G.; MARESCA, B.; TOTA, B. **Biology of antarctic fish**. Springer-Verlag, Berlin, 1991.

DI PRISCO, G. Life style and biochemical adaptation in Antarctic fish. **J. Mar. Syst**. 27:253-265, 2000.

DOMENEGHINI, C.; RADAELLI, G.; BOSI, G.; ARRIGHI, S.; DI GIANCAMILLO, A.; PAZZAGLIA, M.; MASCARELLO, F. Morphological and histochemical differences in the structure of the alimentary canal in feeding and runt (feed deprived) white sturgeons (*Acipenser transmontanus*). **J. Appl. Ichthyol**. 18: 341-346. 2002.

DOMENEGHINI, C.; ARRIGHIA, S.; RADAELLI, G.; BOSIA, G.; VEGGETTI, A. Histochemical analyses of glicoconjugate secretion in the alimentary canal of *Anguilla anguilla*. **Acta Histochem.**, 106. p. 477-487. 2005.

DONATTI, L.; FANTA, E. **Influence of photoperiod on visual prey detection in the Antarctic fish *Notothenia neglecta***. Antarctic Science 14 (2), 146-150, 2002.

DUARTE, V.S. **Estrutura e variabilidade interanual das massas de água no estreito de Bransfield (Antártica) durante os verões austrais de 2003 e 2004**.

2006. Dissertação (Mestrado em Geociências). Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

EASTMAN, J.T. The evolution of neutrally buoyant notothenioid fishes: their specializations and potential interactions in the Antarctic marine food web. In Siegfried, R.W., Condry, P.R. & Laws, R.M., eds. **Antarctic nutrient cycles and food webs**. Berlin: Springer, 430–436. 1985.

EASTMAN, J.T. Zoogeographic origins and evolution of the modern fauna. **Antarctic Fish Biology** – Evolution in a Unique Environment. San Diego, Academic Press, Inc. 1993.

EASTMAN, J.T. The nature of the diversity of Antarctic fishes. **Polar Biology** 28: 93-107. 2005.

EASTMAN, J.T.; DE VRIES, A.L. Morphology of the digestive system of Antarctic nototheniid fishes. **Polar Biol.** 17: 1-13. 1997.

EASTMAN, J.T.; EAKIN, R.R. An updated species list for notothenioid fish (Perciformes: Notothenioidei), with comments on Antarctic species. **Arch. Fish. Mar. Res.** 48 (1): 11-20, 2000.

EICHER, D.L. **O tempo geológico**. Ed. Edgar Blücher, São Paulo, 1982.

EKAU, W. Morphological Adaptations and Mode of Life in High Antarctic Fish. In: DI PRISCO, G., MARESCA, B., TOTA, B. **Biology of Antarctic Fish**. Berlin: Springer-Verlag, p.23-29. 1991.

EVANS, D.H. The Physiology of Fishes. CRC Press, Boca Raton, USA. 1993.

EVANS, T.G.; SOMERO, G.N. Phosphorylation events catalyzed by major cell signaling proteins differ in response to thermal and osmotic stress among native (*Mytilus californianus* and *Mytilus trossulus*) and invasive (*Mytilus galloprovincialis*) species of mussels. **Physiol. Biochem. Zool.** 83 (6): 984-96. 2010.

FELICIO, R.A. Antártida, A geografia do continente gelado e as operações brasileiras. **Anais do I Encontro de Ensino de Geografia das escolas públicas de São Paulo**. 2006.

FERREIRA, P.M.F.; BARBOSA, J.M.; SANTOS, E.L.; LIMA, M.R.; CABRAL, G.A.L. Efeito da temperatura sobre a taxa metabólica da carpa-comum (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758). **Rev. Bras. Eng. Pesca** 4 (2): 1-10. 2009.

FISCHER, W.; HUREAU, J. C. **Oceano austral**. Vol II. Roma: Organizacion de las Naciones Unidas para Alimentacion e la Agricultura, 474 p., 1988.

Fish Base. Disponível em: <<http://www.fishbase.org/>>. Acesso em: setembro de 2011.

FOSTER, T. D. The marine environment. In R. M. Laws (ed.) *Antarctic ecology*, Vol 2, pp. 345–371. Academic Press, London. 1984.

FRANCO, C.R.C. **Estudo ultraestrutural do estômago de dois Teleósteos: *Hypostomus commersonnii* (Reis et al., 1990) e *Rhamdia branneri* (Hasemann, 1911).** 1994. 65p. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Paraná.

FRANKLIN, C.E.; DAVISON, W.; SEEBACHER, F. Antarctic fish can compensate for rising temperatures: thermal acclimation of cardiac performance in *Pagothenia borchgrevinki*. **The Journal of Experimental Biology**. 210: 3068-3074. 2007.

FREIBERGER, S. **Estudo histológico e ultraestrutural do estômago e aspectos do comportamento alimentar do peixe antártico *Notothenia neglecta* Nybelin, 1951 submetido a períodos de jejum.** 1996. Tese (Mestrado em Ciências Morfológicas, área de concentração Biologia Celular). Universidade Federal do Paraná.

GALHARDO, L.; OLIVEIRA, R. Bem-estar animal: um conceito legítimo para peixes? **Revista de Etologia**. 8 (1). 2006.

GALVANINI, P.A. **Efeitos da lesão térmica corporal na mucosa e nos componentes do plexo mioentérico do estômago de ratos.** 2008. Dissertação. Universidade de São Paulo.

GALVÃO, M.S.N.; FENERICH-VERANI, N.; YAMANAKA, N.; OLIVEIRA, I.R. Histologia do sistema digestivo da tainha *Mugil platanus* Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) durante as fases larval e juvenil. **B. Inst. Pesca**. 24: 91-100. 1997.

GARGIULO, A.M.; CECCARELLI, P.; DALL'AGLIO, C.; PEDINI, V. Ultrastructural study on the stomach of *Tilapia* spp (Teleostei). **Anat. Histol. Embryol**. 26: 331-336, 1997.

GERMANO, R.M.; STABILLE, S.R.; CARNIE, M.K.; MARI, R.B.; CLEBIS, N.K.; FARIA, H.G. Análise morfométrica de neurônios mientéricos NADH diaforase positivos do bulbo intestinal de *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1978) (Osteichthyes, Cyprinidae). **Revista Saúde e Pesquisa**. 1 (1): 07-13. 2008.

GOMES, R.M. **Estudo morfológico e histoquímico (carboidratos) do trato digestivo de *Rhamdia branneri*, Hasemman, 1911 (Pisces).** 1981. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná.

GUTTERRES, M. Desenvolvimento sustentável em curtumes. **Anais do XVI Encontro Nacional da ABQTIC**. Foz do Iguaçu. 2003.

HANDELAND, S.O.; IMSLAND, A.K.; STEFANSSON, S.O. The effect of temperature and fish size on growth, feed intake, food conversion efficiency and stomach evacuation rate of Atlantic salmon post-smolts. **Aquaculture**. 283: 36-42. 2008.

HARDING, M.M; ANDERBERG, P.I.; HAYMET, A.D.J. "Antifreeze" glycoproteins from polar fish. **Eur. J. Biochem.** 270 (7): 1381-92. 2003.

HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F.J.; GUERRA, R.R.; KFOURY JR., J.R.; BOMBONATO, P.P.; COGLIATI, B.; SILVA, J.R.M.C. Fat absorptive processes in the intestine of the Antarctic fish *Notothenia coriiceps* (Richardson, 1844). **Polar Biol.** 29 : 831-836. 2006.

HUREAU, J.C. Biologie de *Chaenichthys rhinoceratus* Richardson, et probleme du sang incolore des Chaenichthyidae, poissons de mers australes. **Bull. Soc. zool.** 91 (4): 735-751. 1966.

HUREAU, J.C. Biologie comparée de quelques poissons antarctiques (Nototheniidae), **Bull. Inst. Océanogr.**, Monaco, v. 68, p. 1-244, 1970.

HUREAU, J.C. The significance of fish in the marine Antarctic ecosystems. **Polar Biol.**, v.14: 307-313, 1994.

IZAGUIRRE, I.; MATALONI, G. Antártida, descubriendo el Continente Branco. 190p. Ediciones Caleuche. S. C. de Bariloche, 2000.

JESUS, D.T.; SOUZA, H.T. As atividades da Marinha do Brasil na Antártica. **Oecol. Bras.**, v.11: 07-13, 2007.

JIN, Y; DE VRIES, A.L. Antifreeze glycoprotein levels in Antarctic notothenioid fishes inhabiting different thermal environments and the effect of warm acclimation. **Comparative Biochemistry and Physiology: Biochemistry and Molecular Biology.** 144 (3): 290-300. 2006.

JOBLING, M.; DAVIES, P.S. Gastric evacuation in plaice, *Pleuronectes platessa* L.: effects of temperatura and meal size. **Journal of Fish Biology.** 14: 539-546. 1979.

JOHNSTON, I.A., CLARKE, A., WARD, P. Temperature and metabolic rate in sedentary fish from the Antarctic, North Sea and Indo-West Pacific Ocean. **Mar Bio.**, Berlin, v. 191, p. 191-195, 1991.

KAPOOR, B.G.; SMIT, H.; VERIGHINA, I.A. The alimentary canal and digestión in teleosts. **Advances in Marine Biology.** 13: 109-239. 1975.

KAWAGUCHI, Y.; MIYASAKAS, H.; GENKAI-KATOS, M.; TANIGUCHI, Y.; NAKANO, S. Seasonal change in the gastric evacuation rate of rainbow trout feeding on natural prey. **Journal of Fish Biology.** 71: 1873-1878. 2007.

KEHOE, A.S.; VOLKOFF, H. The effects of temperature on feeding and expression of two appetite-related factors, neuropeptide Y and cocaine- and amphetamine-regulated transcript, in Atlantic Cod, *Gadus morhua*. **Journal of the World Aquaculture Society.** 39(6): 790-796. 2008.

KING, J.C.; HARANGOZO, S.A. Climate change in the western Antarctic Peninsula since 1945: observations and possible causes. **Annals of Glaciology**. 27: 571-575. 1998.

KOCK, K.H. **Antarctic fish and fisheries; Studies in polar research**. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK. 359p., 1992.

KNOX, G. A. **The biology of the Southern Ocean**. Cambridge University Press, 444pp. 1994.

KUCHINSKI, F.B. **Anatomia, histologia e histoquímica do estômago de *Colossoma mitrei*, Ber, 1895 (Pacu-caranha) nos estágios alevino jovem, peixe jovem e adulto**. 1985. Tese (Doutorado da Universidade Mackenzie). São Paulo.

LA MESA, M.; EASTMAN, J.T.; LICANDRO, P. Feeding habits of *Bathyraco marri* (Pisces, Notothenioidei, Bathyracoconidae) from the Ross Sea, Antarctica. **Polar Biology**, 30(5): 541-547. 2006.

LAWS, R. M. **Antarctic Ecology, Volume 2**. Academic Press, 1984.

LIMA, C.L.B.F. **Estudo histológico e histoquímico do trato intestinal de Matrinhã *Brycon cephalus*, Günther, 1869 (Pisces, Characidae)**. 1997. Dissertação (Ciências Biológicas- Morfologia). Universidade Estadual de Campinas.

LIMA, L.C.; RIBEIRO, L.P.; LEITE, R.C.; NETO, D.C. Estresse em peixes. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** 30 (3/4): 113-117. 2006.

LLORENTE, J. E.; Papavero, N. e Simoes, M. G. La distribución de los seres vivos y la historia de la Tierra. **Colección La Ciencia desde México**. No. 148. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 1996.

LORETZ, C.A. Electrophysiology of ion transport in the teleost intestinal cells. In: WOOD, C. M.; SHUTTLEWORTH, T. J. (Eds.). **Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation**. San Diego: Academic Press. Cap. 14, p. 25-56. 1995.

LUNDSTEDT, L.M. **Aspectos adaptativos dos processos digestivo e metabólico de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) arraçados com diferentes níveis de proteína e energia**. 2003. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos.

MACHADO, Cintia. **Diferenciação molecular de duas espécies de peixes antárticos do gênero *Notothenia* (Notothenioidei : Nototheniidae) através da análise do DNA mitocondrial**. 2006. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular). Universidade Federal do Paraná.

MACHADO, Cordélia S.; BRITO, Tânia. **Coleção Explorando o Ensino. Antártica**. Volume 9. Brasília. Ministério da Educação, Secretaria de Educação Básica, 2006.

MACHADO, Jéferson Prietsch. **Respostas da circulação oceânica e atmosférica associada ao enfraquecimento da circulação termohalina global**. 2009. Dissertação (Magister Scientiae). Universidade Federal de Viçosa.

MACIEL, Cláudia Maria Raposo. **Ontogenia de larvas de Piracanjuba, *Brycon orbignyanus valenciennes* (1849) Characiformes, Characidae, Bryconinae**. 2006. Tese ("Doctor Scientiae"). Universidade Federal de Viçosa.

MACIEL JUNIOR, A. **Efeitos da temperatura no desempenho e na morfometria de tilápia, *Oreochromis niloticus*, de linhagem tailandesa**. 2006. Tese ("Doctor Scientiae"). Universidade Federal de Viçosa.

MARQUES, E.E.; AGOSTINHO, A.A.; SAMPAIO, A.A.; AGOSTINHO, C.S. Alimentação, evacuação gástrica e cronologia da digestão de jovens de pintado *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes, Pimelodidae) e suas relações com a temperatura ambiente. **Revista UNIMAR**. 14 (Suplemento): 207-211. 1992.

MELO-JUNIOR, M.R.; MACHADO, M.C.F.P.; ARAÚJO-FILHO, J.L.S.; PATU, V.J.R.M.; BELTRÃO, E.I.C.; PONTES-FILHO, N.T. Avaliação histoquímica da mucosa gastrointestinal de ratos expostos ao álcool. **Revista Paranaense de Medicina**. 20 (4). 2006.

MENDES JÚNIOR, C.W.; ARIGONY-NETO, J.; RIBEIRO, R.R.; SIMÕES, J.C. Uso de imagens ERS SAR no monitoramento de zonas superficiais de neve e gelo da região nordeste da Península Antártica. **Pesquisas em Geociências**. 36 (2): 203-222, mai./ago. 2009.

MEYER, T.N.; SILVA, A.L. Resposta celular ao estresse. **Rev. Assoc. Med. Bras**. 45 (2). 1999.

MICHEL, R.F.M. **Solos criogênicos e ornitogênicos da área de entorno da Ponta Llano, Antártica Marítima**. 2005. Tese (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas). Universidade Federal de Viçosa.

MIOT, H. A.; BRIANEZI, G. Análise morfométrica do colágeno dérmico a partir da segmentação por conglomerados (clusters) de cor. **An. Bras. Dermatol**. 85 (3): 361-4, 2010.

MONTENEGRO, L.A. **Biologia alimentar e morfohistologia do tubo digestório do mussum, *Synbranchus marmoratus*, Bloch (Osteichthyes: Synbranchidae) no açude Marechal Dutra "Gargalheiras", localizado no semi-árido brasileiro**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

MORAES, M.F.P.F.; BARBOLA, I.F. GUEDES, E.A.C. Alimentação e relações morfológicas com o aparelho digestório do "curimbatá", *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) (Osteichthyes, Prochilodontidae), de uma lagoa do sul do Brasil. **Rev. Bras. Zoologia**, 14, 169-180, 1997.

MURRAY, H.M.; WRIGHT, G.M.; GOFF, G.P. A comparative histological and histochemical study of the post-gastric alimentary canal from three species of pleuronectid, the Atlantic halibut, the yellowtail flounder and the winter flounder. **Journal of Fish Biology**. 48:187-206. 1996.

NAGUIB, S.A.A.; EL-SHABAKA, H.A.; ASHOUR, F. Comparative histological and ultrastructural studies on the stomach of *Schilbe mystus* and the intestinal swelling of *Labeo niloticus*. **Journal of American Science**, 7 (8): 251-263. 2011.

NORTH, A. W. Review of the early life history of Antarctic notothenioid fish. In: Di Prisco, G.; Maresca, B.; Tota, B. **Fish Biology of Antarctic**. Berlin: Springer-Verlag, 1991. p.71-86.

OJEDA, F. P. Morphological characterization of the alimentary tract of antarctic fishes and its relation to feeding habits. **Polar Biol**. 5:125-128. 1986.

OLASO, Ignacio. **Los peces antárticos, un club reducido y exigente**. Revista eletrônica del Instituto Español de Oceanografía. N.4. Maio-Junio 2006. Disponível em: < <http://www.ieo.es/revistaieo/ieo004.pdf>>. Acesso em: setembro 2011.

OLIVEIRA-RIBEIRO, C.A. e FANTA, E. Microscopic morphology and histochemistry of the digestive system of a tropical freshwater fish *Trichomycterus brasiliensis* (Lükten) (Siluroidei, Trichomycteridae). **Revta bras. Zool**. 17 (4), 953-971, 2000.

OSMAN, A.H.K.; CACECI, T. Histology of the stomach of the *Tilapia nilotica* (Linnaeus, 1758) from the River Nile. **Journal of Fish Biology**. 38: 211-221. 1991.

PARK, J.Y.; KIM, I.S. Histology and mucin histochemistry of the gastrointestinal tract of the mud loach, in relation to respiration. **Journal of Fish Biology**. 58: 861-872. 2001.

PECK, L.S.; WEBB, K.E.; BAILEY, D.M. Extreme sensitivity of biological function to temperature in Antarctic marine species. **Functional Ecology**. 18: 625-630, 2004.

PEDINI, V.; SCOCCO, P.; RADAELLI, G.; FAGIOLI, O.; CECCARELLI, P. Carbohydrate histochemistry of the alimentary canal of the Shi Drum, *Umbrina cirrosa* L. **Anat. Histol. Embryol**. 30: 345-349, 2001.

PERCEBON, C.M.; BITTENCOURT, A.V.L.; FILHO, E.F.R. Diagnóstico da temperatura das águas dos principais rios de Blumenau, SC. **Boletim Paranaense de Geociências**, n.56, p.7-19. Editora UFPR, 2005.

PEREIRA, J.; WAINER, I.; CAMPOS, E. J. D E; HAARSMA, R. J. Variabilidade climática do oceano austral usando um modelo acoplado no NCAR. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v.19, n.2, 113-122. 2004.

PÉREZ-CASANOVA, J.C.; LALL, S.P.; GAMPERL, A.K. Effect of feed composition and temperature on food consumption, growth and gastric evacuation of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). **Aquaculture**. 294: 228-235. 2009.

PETRINEC, Z.; Nejedly, S.; Kuzir, S.; Opacak, A. Mucosubstances of the digestive tract mucosa in northern pike (*Esox Lucius* L.) and European catfish (*Silurus glanis* L.). **Veterinarski Arhiv** 75 (4): 317-327. 2005.

PREVIATO, V. **Influência de piscicultura em tanques rede na qualidade da água do Rio São José dos Dourados no município de Ilha Solteira/ SP.** 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil – com ênfase em Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP.

PRODÓCIMO, V. **A transição entre hipo e hiper-regulação osmótica do plasma em peixes eurihalinos.** 2006. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular). Universidade Federal do Paraná.

PÖRTNER, H.O.; PECK, L.; SOMERO, G. Thermal limits and adaptation in marine Antarctic ectotherms: an integrative view. **Phil. Trans. R. Soc. B.** 362: 2233-2258, 2007.

RAJI, A.R.; NOROUZI, E. Histological and histochemical study on the alimentary canal in Walking catfish (*Claris batrachus*) and piranha (*Serrasalmus natterii*). **Iranian Journal of Veterinary Research**, Shiraz University. 11: 255-261, 2010.

RAKUZA-SUSZCZEWSKI, S., MIETUS, M. PIASECKI, J. Weather and climate. In RAKUZA-SUSZCZEWSKI, S. (Ed.). **The maritime Antarctic coastal ecosystem of Admiralty Bay**, Warsaw: Polish Academy of Sciences, p. 19-25. 1993.

ROBINSON, E.; DAVISON, W. Antarctic fish can survive prolonged exposure to elevated temperatures. **Journal of Fish Biology.** 73: 1676-1689. 2008.

RODRIGUES, S.S.; MENIN, E. Anatomia do tubo digestivo de *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1817) (Pisces, Characidae, Salmininae). **Biotemas.** 21 (2): 65-75. 2008.

ROMÃO, S., FREIRE, C.A., FANTA, E. Ionic regulation and Na, K-ATPase activity in gills and kidney of the aglomerular Antarctic fish *Notothenia neglecta* upon exposure to seawater dilution. **Journal of Fish Biology.** 59:463-468. 2001.

ROTTA, M.A. Aspectos Gerais da Fisiologia e Estrutura do Sistema Digestivo dos Peixes Relacionados à Piscicultura. Corumbá- MS. **Embrapa Pantanal.** 2003.

SALVANES, A.G.V.; ASKSNES, D.L.; GISKE, J. A surface-dependent gastric evacuation model for fish. **Journal of Fish Biology.** 47: 679-695. 1995.

SANTOS, C.M.; DUARTE, S.; SOUZA, T.G.L.; RIBEIRO, T.P.; SALES, A. e ARAÚJO, F.G. Histologia e caracterização histoquímica do tubo gastrintestinal de *Pimelodus maculatus* (Pimelodidae, Siluriformes) no reservatório de Funil, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia, Sér. Zool.** 97 (4): 411-417. 2007.

SCHELLMANN, K.; KOZEL, S. A conquista da Antártica: signos e representações. **Revista Discente Expressões Geográficas.** 1: 15-26. 2005.

SCOTese, C. R. **PALEOMAP Project**. Arlington, TX: University of Texas at Arlington. Disponível em: <www.scotese.com>. 2010.

SEEBACHER, F.; DAVISON, W.; LOWE, C.J.; FRANKLIN, C.E. A falsification of the thermal specialization paradigm: compensation for elevated temperatures in Antarctic fishes. **Biol. Lett.** 1: 151-154. 2005.

SIDELL, Bruce D. Life at Body Temperatures below 0°C: The Physiology and Biochemistry of Antarctic Fishes. **Gravitational and Space Biology Bulletin** 13(2). 2000.

SILVA, E. C. S.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. Influência do tipo de alimento e da temperatura na evacuação gástrica da piranha caju (*Pygocentrus nattereri*) em condições experimentais. **Acta Amazonica**. v. 33 (1), p. 145-155. 2003.

SILVA, N. B.; GURGEL, H. C. B.; SANTANA, M. D. Histologia do sistema digestório de saguiri, *Steindachnerina notonota* (Miranda Ribeiro, 1937) (Pisces, Curimatidae), do Rio Ceará Mirim, Rio Grande do Norte, Brasil. **B. Inst. Pesca**. São Paulo, 31 (1). P. 1-8. 2005.

SILVA, L.O.C.; TUBINO, R.A.; CHAGAS, W.A. Análise comparativa da morfologia do trato digestório de *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879) (Clupeidae), *Genidens genidens* (Cuvier, 1829) (Ariidae) e *Trichiurus lepturus* (Linnaeus, 1758) (Trichiuridae). **Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil**. São Lourenço. 2008.

SIMÕES, J.C.; ARIGONY-NETO, J.; BREMER, U.F. O uso de mapas antárticos em publicações. **Pesquisa Antártica Brasileira**. 4: 191-197, 2004.

SIRVINSKAS, Luís Paulo. **Externalidades negativas do aquecimento global**. Disponível em: <http://www.mp.go.gov.br/portalweb/hp/1/docs/texto_para_debate_minicurso_questoes_atuais_do_meio_ambiente.pdf>. Acesso em 13 julho 2011.

SMITH, W.O.; AINLEY, D.G.; CATTANEO-VIETTI, R. Trophic interactions within the Ross Sea continental shelf ecosystem. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, 362, 95–111. 2007.

SOMERO, G. N.; GIESE, A. C.; WOHLSCHLAG, D. D. Cold adaptation of the Antarctic fish *Trematomus bernacchii*. **Comp. Bioch. And Phys.** v. 26, p. 223-233. 1968.

SOMERO, G.N. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine “winners” and “losers”. **The Journal of Experimental Biology**. 213: 912-920, 2010.

SOUZA, J.E.B. A Antártica e o Brasil. **Revista Pesquisa Naval**. 19: 204-213. 2010.

TONEL, I.S.P.A. **Efeito da utilização de butirato de sódio na digestibilidade, actividade fermentativa e morfologia intestinal de leitões desmamados**. 2009.

Dissertação (Mestrado em Engenharia agrônômica- Agro-pecuária). Instituto superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.

TURNER, J.; COLWELL, S.R.; MARSHALL, G.J.; LACHLAN-COPE, T.A.; CARLETON, A.M.; JONES, P.D.; LAGUN, V.; REID, P.A.; IAGOVKINA, A. S. Antarctic climate change during the last 50 years. **International Journal of Climatology**. 25: 279-294, 2005.

TURNER, J.; OVERLAND, J.E.; WALSH, J.E. An Arctic and Antarctic perspective on recent climate change. **International Journal of Climatology**. 27: 277-293, 2007.

VAUGHAN, D.G. Implications of the break-up of Wordie Ice Shelf, Antarctic for sea level. **Antarctic Science**. 5: 403–408. 1993.

VERDE, C.; GIORDANO, D.; RUSSO, R.; RICCIO, A.; COPPOLA, D.; DI PRISCO, G. Evolutionary adaptations in antarctic fish: the oxygen-transport system. **Oecologia Australis**. 15 (1): 40-50. 2011.

VIANNA, A.C.C.; FANTA, E.; HAAPALAINEN, E. Comparative morpho-functional study of the intestine of the Antarctic fish *Notothenia coriiceps* and *Trematomus newnesi* (Nototheniidae): Histology and ultrastructure. **Antarctic Record**. 44 (2): 61-82. 2000.

WEN, J.; KANG, J.; XIE, Z.; HAN, J.; LLUBERAS, A. Climate, mass balance and glacial changes on small dome of Collins Ice Cap, King George Island, Antarctica. **Antarctic Research**. 5 (1): 52-61. 1994.

WILSON, J.M.; CASTRO, L.F.C Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. In: GROSSELL, M.; FARRELL, A.P.; BRAUNER, C.J. The multifunctional gut of fish. Academic Press, 2011. P. 2-44.